



GİRESUN
ÜNİVERSİTESİ



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GİRESUN YÖRESİNDE YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN BAKIR
İNDİRGEME KAPASİTELERİ (CUPRAC) VE ANTİ-TİROZİNAZ
ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Kimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Hatice AKIN KILIÇ
162106011**

2020

GİRESUN

TC.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GİRESUN YÖRESİNDE YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN
BAKIR İNDİRGEME KAPASİTELERİ (CUPRAC) VE ANTİ-
TİROZİNAZ ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice AKIN KILIÇ

Fen Bilimleri Enstitüsü : Kimya Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı : Prof.Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN

Ocak 2020

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GİRESUN YÖRESİNDE YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN BAKIR İNDİRGEME
KAPASİTELERİ (CUPRAC) VE ANTİ-TİROZİNAZ ENZİM
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

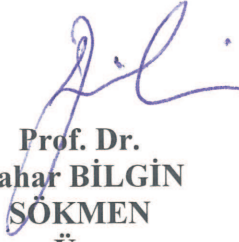
Hatice AKIN KILIÇ

Enstitü Anabilim Dalı : Fen Bilimleri Enstitüsü

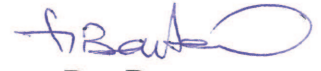
Bu tez 14.01.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr.
Ahmet
YAŞAR
Jüri Başkanı



Prof. Dr.
Bahar BİLGİN
SÖKMEN
Üye



Doç. Dr.
Hakan BEKTAŞ
Üye

Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Hatice AKIN KILIÇ
14/01/2020

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini hiç esirgemeyen çok değerli danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezde kullanılan tüm bitkilerin teşhisini yapan Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Zafer TÜRKMEN'e çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan canım aileme, özel olarak üzerimde en büyük emeğin mimarı ve benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım annem Muradiye AKIN'a, yüksek lisans yapıyor olabilmemdeki, en büyük desteği sağlayan, canı gönülden isteyen, benimle aynı heyecanı yaşayan canım babam Nuri AKIN'a ve yardımlarından, anlayışından, başarımın arkasında duruşundan dolayı canım eşim Emrah KILIÇ'a en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: FEN-BAP-A-230218-36) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
1.1. Enzim Tanımı ve Enzimlerin Tarihçesi	1
1.1.1. Enzimlerin Genel Özellikleri	2
1.1.2. Enzimlerin Yapısı.....	5
1.1.3. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması	8
1.1.4. Enzimlerin Çalışmasına Etki Eden Etmenler	10
1.1.4.1. Enzim Konsantrasyonu	11
1.1.4.2. Substrat Konsantrasyonu.....	11
1.1.4.3. Sıcaklık.....	12
1.1.4.4. Ortam pH'ı	12
1.1.4.5. Zaman.....	13
1.1.4.6. Reaksiyon Ürünleri	13
1.1.4.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler.....	13
1.1.4.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Maddeler.....	13
1.1.4.9. Enzimlerin Kullanım Alanları.....	13
1.1.4.10. Hastalık Tanısında Enzimler.....	16
1.2. Antioksidanlar	16
1.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	19
1.2.1.1. Endojen Antioksidanlar.....	19

1.2.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	20
1.2.1.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	20
1.2.1.2. Eksojen Antioksidanlar	20
1.2.1.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar	20
1.2.2. Antioksidanların Başlıca Özellikleri... ..	20
1.2.3. Antioksidanın Faydaları... ..	20
1.3. Tirozinaz Enziminin Biyokimyası... ..	21
1.3.1. Tirozinazın Adlandırılması... ..	21
1.3.2. Tirozinazın Doğadaki Dağılımı... ..	23
1.3.3. Tirozinazın Katalizlediği Reaksiyonlar ve Mekanizmaları... ..	24
1.3.4. Tirozinazın Substratları... ..	24
1.3.5. Enzimatik Kararma	25
1.3.6. Tirozinaz İnhibitörleri ve Enzimatik Kararmanın Önlenmesi... ..	27
1.3.7. Tirozinazın Saflaştırılması... ..	28
1.3.8. Bulunduğu Yerler ve Önemi	30
1.3.9. Biyolojik İşlev ve Tirozinazın Dağılımı... ..	31
1.3.10. Tirozinazların Endüstriyel Uygulamaları.....	31

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI..... 32

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... 34

3.1. Materyal	36
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar	36
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.1.3. Deneylerde Kullanılan Bitkiler... ..	36
3.1.3.1. Karalahana.....	37
3.1.3.2. Pancar Çiçeği	38
3.1.3.3. Sakarca	38
3.1.3.4. Melocan.....	39
3.1.3.5. Kaldirik	40
3.1.3.6. Kuzukulağı	41
3.1.3.7. Çalı Çileği	41

3.1.3.8. Hoşuran	42
3.1.3.9. Isırgan.....	43
3.1.3.10. Ezeltire.....	43
3.1.3.11. Pazı Pancarı.....	44
3.1.3.12. Mendek.....	44
3.1.3.13. Gücükdene	45
3.1.3.14. Pancar.....	45
3.1.3.15. Ayı Kulağı.....	46
3.1.3.16. Kabalak Otu	47
3.2. Yöntem.....	48
3.2.1.1. Metanol-Su Ekstrelerinin Hazırlanması.....	48
3.2.1.2. Dietil eter Ekstrelerinin Hazırlanması.....	48
3.2.2. Anti-tirozinaz Aktivite Tayini.....	49
3.2.3. CUPRAC İndirgeme Gücü Yöntemi İle Antioksidan Kapasite Tayini	50
 BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	 51
4.1. Anti-tirozinaz Enzim Aktivite Tayini Sonuçları.....	51
4.2. CUPRAC İndirgeme Gücü Yöntemi Tayini Sonuçları.....	52
 BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	 55
 KAYNAKLAR.....	 59
ÖZGEÇMİŞ.....	77

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

kDa	:	Kilo Dalton
μmol	:	Mikromol
μg	:	Mikrogram
$\mu\text{g/mL}$	:	Mikrogram / Mililitre
μL	:	Mikrolitre
mM	:	Milimolar
mg/mL	:	Miligram/Mililitre
mL	:	Mililitre
M	:	Molar
nm	:	Nanometre
$^{\circ}\text{C}$	:	Santigrat Derece
%	:	Yüzde
ATP	:	Adenozin Trifosfat
BHT	:	Bütil Hidroksitoluen
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
PG	:	Propil Gallat
RAT	:	Reaktif Azot Türleri
ROT	:	Reaktif Oksijen Türleri
UV	:	Ultraviyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Enzim Substrat İlişkisi	3
Şekil 1.2. Katalizlenmemiş ve Enzim-Katalizli Egzorgonik Bir Reaksiyon İçin Aktivasyon Enerji Dönüşü	4
Şekil 1.3. Bir Polipeptit Zincirinin Katlanması Ve Aktif Bölgenin Oluşumu.....	7
Şekil 1.4. Anahtar – Kilit Modeli.....	7
Şekil 1.5. İndüklenmiş Uyum Modeli	8
Şekil 1.6. Enzim Konsantrasyonunun Reaksiyon Hızına Etkisi	11
Şekil 1.7. Substrat Miktarının Reaksiyon Hızına Etkisi.....	12
Şekil 1.8. Sıcaklığın Reaksiyon Hızına Etkisi.....	12

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Karalahana	37
Resim 2.2. Pancar Çiçeği	38
Resim 2.3. Sakarca Bitkisi	38
Resim 2.4. Melocan Bitkisi.....	39
Resim 2.5. Kaldirik Bitkisi.....	40
Resim 2.6. Kuzukulağı Bitkisi	41
Resim 2.7. Çalı Çileği Bitkisi	41
Resim 2.8. Hoşuran Bitkisi... ..	42
Resim 2.9. Isırgan Bitkisi.....	43
Resim 2.10. Ezeltire (Anason) Bitkisi	43
Resim 2.11. Pazı Pancarı Bitkisi	44
Resim 2.12. Mendek Bitkisi.....	44
Resim 2.13. Gücükdene Bitkisi.....	45
Resim 2.14. Pancar Bitkisi	45
Resim 2.15. Ayı Kulağı Bitkisi	46
Resim 2.16. Kabalak Otu	47

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. İlaç Olarak Kullanılan Enzim İnhibitörleri	15
Tablo 1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	19
Tablo 4.1. Bitkilerin Dietil eterli ve Metanol-su Anti-tirozinaz Aktivite Değerleri.	51
Tablo 4.2. Bakır İndirgeme Kapasiteleri CUPRAC Aktivitelerinin Tayini	53



Giresun Yöresinde Yetişen Bazı Yöresel Bitkilerin Bakır İndirgeme Antioksidan Kapasiteleri (CUPRAC) ve Anti-tirozinaz Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi

ÖZET

Organizmada gerçekleşen metabolik reaksiyonların işleyişi sırasında veya çevresel ajanlar, sıkıntı, stres gibi çeşitli dış etmenlerin etkisiyle serbest radikaller oluşmaktadır. Antioksidanlar; serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek, oluşan serbest radikalleri nötralize eder vücudun bunlardan etkilenmesini engeller.

Tirozinaz, moleküler oksijeni tercih ederek monofenollerin *o*-kinonlara oksidasyonunu katalizleyen, yapısında bakır bulunduran bir enzimdir. Bu enzim, melanin biyosentezinde rolü olan anahtar bir enzimdir. Melanin saçın ve derinin rengini oluşturan faktörlerden biri olan polifenol yapıdaki bir biyopolimerdir ve tirozinaz, melanin sentezindeki iki tepkimeyi katalizler. Dermatolojik problemlerin birçoğu fazla melanin pigmenti salgılanmasından kaynaklanır. Melanin biyosentezinin önüne geçilmesi ise özellikle tirozinazın inhibisyon işlemi ile sağlanabilir.

Günümüze kadar, farklı enzimlerde organik ve organik olmayan bileşikler ve çeşitli metal iyonlarının inhibitör etkisi araştırılmıştır. Bunlara ek olarak, farklı bitkilerden meydana gelen ekstraktların da enzimler üzerindeki inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Yenilebilen bitkiler flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler ve diğer fenolik bileşikler bakımından zengindir. Bu sebeple yenilebilen bitkiler enzimleri kontrol altında tutmak için güvenilir bir araçtır.

Son yıllarda tirozinaz enzim inhibitörleri ile ilgili çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Doğal kaynaklar ve sentetik yollar ile oluşturan onlarca tirozinaz inhibitörü keşfedilmiştir. Bu çalışmada, Giresun yöresinde yetişen bazı bitkilerin bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (CUPRAC) ve tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon etkileri incelenecektir.

Anahtar Kelimeler: Tirozinaz, Antioksidan, CUPRAC, İnhibitör, Melanin

Investigation of The Copper Reduction Antioxidant Capacities (CUPRAC) and Anti-tyrosinase Enzyme Activities of some Local Plants Growing in Giresun Region

SUMMARY

Free radicals are formed with metabolic reactions in organisms or with the external factors which are environmental agents, stress and radiation. Antioxidants blocks the effects of free-radicals by neutralizing them. Thus prevents the human body from the free agents.

Tyrosinase is an enzyme which includes copper and uses molecular oxygen to catalyze *o*-kinon oxidation of monophenols. This enzyme is a key enzyme that has a role at melanin biosynthesis. Melanin is a polyphenol structured biopolymer which gives color to skin and hair. Tyrosinase catalyzes two reaction in melanin synthesis. Most of the dermatologic distortion caused by the excessive secretion of melanin pigment. Inhibition of melanin biosynthesis is achieved by tyrosinase inhibition in particular.

Until today, inhibition effects of organic - inorganic compounds and various metal ions analyzed on various enzymes. Add to this, inhibition effects of the extracts of various plants were analyzed. Edible plants are rich in terms of flavonoids, terpenoids, alkaloids and other phenolic compounds. Therefore edible plants may be a safe source to control the enzymes.

In recent years, many studies about enzyme inhibitors are published. Hundreds of tirozinas inhibitors, both synthetically made and obtained from natural sources are discovered. This study covers copper reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and inhibition effect of trozinas enzyme of some plants which grows in Giresun region.

Keywords: Tyrosinase, Antioxidant, CUPRAC, Inhibitor, Melanin

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Enzimler, canlı organizmada kimyasal reaksiyonları hızlandırıcı bir rol oynayıp, hiçbir yan ürün oluşumuna fırsat vermeden, %100'le reaksiyonun gerçekleşmesini sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Proteinlerin en büyük özelleşmiş grubunu teşkil etmektedirler [1].

Enzimler, doğal ortamlar dışında yeterli şartlar sağlandığında dış ortamlarda da etkilerini gösterebilirler. Bu nedenle, enzimler bulundukları doku veya hücrelerin belirlenmesi, biyokimyasal reaksiyon fonksiyonlarının ortaya çıkarılması, etki mekanizmalarının ve kinetik özelliklerinin bütün ayrıntıları ile incelenmesi büyük önem taşımaktadır [2].

Enzimlerin aktivitelerinin çeşitli bileşikler tarafından azaltılması veya bütünüyle yok edilmesi durumu 'inhibisyon' olarak adlandırılmaktadır. İnhibisyona sebep olan bileşiklere de 'inhibitör' denilmektedir. Enzim aktivitesinin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde başlıca kontrol mekanizması meydana getirdiğinden büyük önem taşımaktadır [1]. Günümüzde enzim ve enzim inhibitörlerinden tıp, eczacılık, gıda, çevre, tarım, hayvancılık, deterjan, kağıt, tekstil ve kozmetik gibi pek çok alanda faydalanılmaktadır [3].

Tirozinaz, melanin üretimini kontrol etmek için, oranı sınırlayan enzim olan bir oksidazdır. Enzim temel olarak melanin sentezinin iki farklı reaksiyonunda rol oynar.

Geleneksel olarak kullanılan halk ilaçları, yüzyıllardır nesilden nesile aktararak önemini sürdüren ve çok çeşitli hastalıkların tedavisi için insanların faydalandığı doğal elde edilen ilaçlardır. Bitkilerin içeriğindeki etken olarak maddeler, sentezlenen kimyasal maddelere kıyasla yan etkilerinin daha düşük seviyede olması ucuz ve kolay bulunabilir olabilmesi nedeniyle, bitkisel kaynaklara ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle, bitkilerden ve bitkisel içerikli olan çok miktarda bileşikten

meydana gelen kimyasal maddeler birçok hastalığın iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. Bununla doğru oranda bu kullanımların bilimsel gerçekliğinin var olup olmadığının incelenmesinin değeri artmaktadır [3].

1.1. Enzim Tanımı ve Enzimlerin Tarihçesi

Enzimler; hücre çoğalması, enerjinin veya besinlerin çevreden alınması ve enerjinin dönüşümü, metabolitlerin taşınması ve kısaca metabolizma olarak tanımlanan bütün hücre fonksiyonlarının gerçekleştirilmesi için gerekli olan biyokatalizörlerdir [10]. Metabolizmada gerçekleşen tüm kimyasal olayları yaşam ile uyumlu bir şekilde gerçekleştiren kimyasal ajanlardır [11].

Alkoller şekerlerden elde edilirken, şarabın sirkeleşmesi, peynir yapılması ve idrarda amonyağın oluşumu şeklindeki enzimatik reaksiyonlar, tarih öncesi çağlardan bu yana tanınmaktadır. Hücrelerde organik maddelerin sentezlenmesi (anabolizma) ve yıkılması (katabolizma), sindirim ve kas kasılması, hücre solunumu, vb. değerli fizyolojik aktiviteler çeşit çeşit metabolik reaksiyonlar sonucu gerçekleşmektedir ve tüm bu reaksiyonlar da enzimlerin katalitik etkisi sayesinde gerçekleşmektedir. Bu sebeplerden dolayı yaşam, birçok enzimatik reaksiyonun bir araya gelmesi sonucu oluşan bir sistem olarak da tanımlanmaktadır [12].

İlk enzim çalışmaları, sindirim ile ilgili enzimlerin araştırılmaya başlandığı 1760-1825 yılları arasında gerçekleşmiştir. İlk kez 1825 yılında Berzelius, nişastanın sindiriminde etkisi olan bitkisel enzimler ile çalışmış; 1860 yıllarında Pasteur, fermentasyon enzimleri üzerinde araştırmalar yapmıştır. Fermentasyon ile ilişkilerinden dolayı başlangıçta verilen ferment adı 1878 yılında Kühne tarafından Yunanca'da "maya içinde" anlamına gelen "enzim" ismi ile değiştirilmiştir [13]. 1926'da James Sumner tarafından üreaz enziminin izole ve kristalize edilmesi, spesifik enzimlerin özelliklerinin daha önceki incelenmelerine yol açmıştır. Sumner, üreaz kristallerinin sadece protein yapısında olduğunu bulmuş ve bütün enzimlerin protein yapıda olduklarını ileri sürmüştür. Bu düşünce, farklı örneklerin olmaması nedeniyle bir süre için tartışmalı kalmıştır. Fakat, 1930 yıllarında John Northrop ve

meslektaşlarının pepsin ve tripsin enzimini kristalize etmeleri ve bu enzimlerin protein yapısında olduklarını bulmaları neticesinde Sumner'ın vardığı sonuç genel olarak kabul görmüştür. Böylece enzimlerin protein yapıda olduğu kanıtlanmıştır [11].

1.1.1. Enzimlerin Genel Özellikleri

Enzimler, canlı hücreler tarafından biyolojik şartlarda sentez edilmektedir. Ama aktivite göstermeleri için hücrede olmaları zorunlu değildir. Proteinlerin önemli bir grubunu oluşturan enzimlerin temel yapısı, peptit zincirleri şeklinde aminoasitlerden oluşmakta ve kendilerine özgü 3-boyutlu yapılıdır. 3-boyutlu tersiyer yapıları bu biyomoleküllere, bağlanacakları ve değiştirecekleri substrat moleküllerini istediğini seçme ayrıcalığını kazandırmaktadır. Kuaterner yapıya sahip yani birden çok alt birimli enzimler de mevcuttur. Enzimlerin üç boyutlu bu yapıları substrat molekülünün uygun bir şekilde bağlanabilmesini sağlayacak biçimdedir ve bu yapı önemli derecede enzimin katalitik aktivitesini sağlar [10].

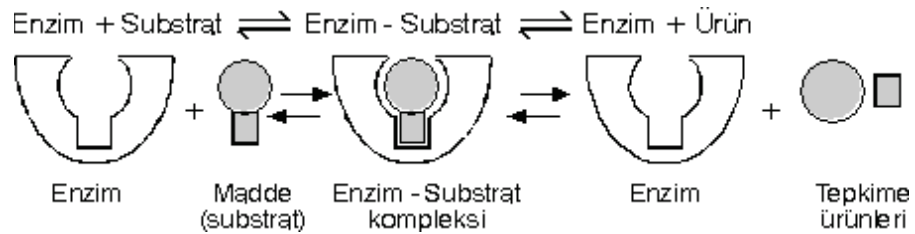
Enzimlerle substratlar veya diğer enzimlere bağlanabilen moleküller arasındaki etkileşimler proteinlerin üç boyutlu bu yapılarının kazanılmasında da rol oynayan zayıf etkileşimler olan iyonik bağ, van der Waals etkileşimleri, hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimlerdir.

Enzimlerin dahil olduğu reaksiyonlar, oldukça yüksek düzeylerde reaksiyon hızları gösterirler. Enzimler ile katalizlenen reaksiyonların hızları, katalizlenmemiş reaksiyonlara kıyasla çoğunlukla 10^6 - 10^{12} kat daha büyüktür. Enzimler, genellikle atmosfer basıncında, 100 °C'nin altındaki sıcaklık ve fizyolojik pH değerlerinde biyokimyasal reaksiyonları katalizlemektedir [10].

Bir enzim, yalnızca tek bir substrat üzerinde rol oynadığında ve yalnızca tek bir reaksiyonu katalizlediğinde “tam spesifiklik” gösterir. Yani aktif bölgeye konumlanabilecek bir tek cinsten substrat molekülüne bağlanabilir. Örneğin;

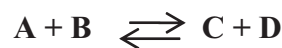
galaktokinaz, yalnızca galaktozun fosforillenmesini katalizleyebilirken; glukokinaz, ise yalnızca glukozun fosforillenmesinden sorumludur. Birtakım enzimler genel bir fonksiyonel gruba ait olan bazı substratlar üzerinde rol oynayabilirler ki bu, “grup spesifikliğı” olarak ifade edilir. Örnek vericek olursak fosfatazlar, bir fosfat fonksiyonel grubuna sahip ancak oldukça farklı substratların reaksiyonlarını katalizleyebilirler. Bazı enzimler ise belirli bir türden kimyasal bağlara karşı özgündürler. “Bağ spesifikliğı”ne örnek olarak esterazlar verilebilir. Bu tür enzimler ester bağları bulunduran moleküllerin hidrolizini yani yıkımını katalizlemekten mesuldür. Bazıları ise “izomer spesifikliğı” gösterir ve D- ve L- izomerlerden sadece bir tanesinin reaksiyonunu katalizlemekten sorumludur. Örneğin; L-aminoasit oksidaz, sadece L-aminoasitlerden amino grubunun uzaklaştırılmasını ve böylece bir keto asit ile beraber amonyakın oluşumunu katalizleme özgülüğüne sahiptir [10].

Enzimler hücredeki reaksiyonlarda yan ürün oluşturmazlar, reaksiyonların %100 verimle gerçekleşmesini sağlarlar [14]. Enzimler reaksiyon sırasında fiziksel değişikliklere uğrasalarda, reaksiyon tamamlandığında tekrar eski orijinal hallerine geri dönerler [15].

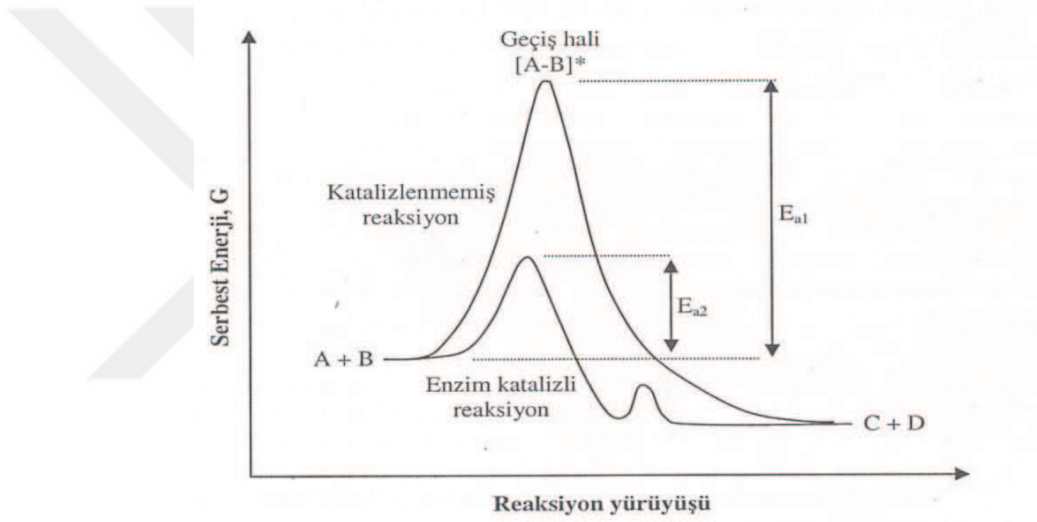


Şekil 1.1 Enzim Substrat İlişkisi [15].

Enzimler, kimyasal reaksiyonların normalden en az milyon defa daha hızlı gerçekleşmesini sağlar. Katalizlenmemiş bir reaksiyonun dengeye varması yavaş olmasına rağmen, enzimler varlığında denge birkaç saniyede sağlanır.



A ve B moleküllerinin yukarıda tanımlandığı şekilde reaksiyon verip C ve D ürünlerini oluşturabilmesi için kimyasal bağı kırabilecek ya da yapabilecek kadar yeterli kinetik enerjiyle birbirlerine çarpmaları gerekir. Dolayısıyla moleküller geçiş halinin oluşumunu sağlayacak kadar bir aktivasyon enerjisine (E_a) sahip olmalıdır (Şekil 1.2). Geçiş hali yüksek enerjili bir ara üründür ve A ile B reaktanlarının C ve D ürünlerine dönüşebilmeleri için bu enerjiye ihtiyaçları vardır ve geçiş hali oluşur oluşmaz ürünlere varılır. Eğer reaktan moleküllerin çoğu yeterli kinetik enerjiye sahip olmazsa, çok azı geçiş halinin enerjisine varacak ve dolayısıyla çok az ürün oluşacaktır. Ancak çevreden yeterli enerji sağlanırsa geçiş haline daha kolay varılıp daha fazla ürün oluşması mümkün olacaktır.



Şekil 1.2 Katalizlenmemiş ve Enzim-Katalizli Egzergonik Bir Reaksiyon için Aktivasyon Enerji Dönüşü [10].

Enzim katalizli bir reaksiyonda ise, A ve B reaktanları enzimin aktif bölgesine bağlanıp C ve D ürünlerini oluşturmak üzere etkileşeceklerdir. Ancak enzim varlığında geçiş halinin enerjisi enzimsiz olana göre çok daha düşüktür. Bunun sebebi, enzimin aktif bölgesinde A ve B substratları daha düşük enerjili yeni bir ürün veya ara ürün oluşturur. Böylece enzimler aktif bölgede substratlar ile etkileşmek üzere sağladıkları gruplar yardımıyla, aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonun herhangi bir yönde daha hızlı ilerlemesini sağlayabilir. Bununla birlikte enzimler dengenin yönüne hiçbir şekilde etki etmezler [10].

1.1.2. Enzimlerin Yapısı

Katalitik RNA moleküllerinin ufak bölümü (ribozimler) dışında tüm enzimler protein yapısındadırlar. Bu sebeple enzimler, proteinlerin bütün yapısal özelliklerini gösterirler. Enzimler, tüm proteinler gibi 12.000'den 1.000.000'un üzerine kadar değişken moleküler ağırlığa sahiplerdir. Enzimlerin katalitik aktiviteleri, doğal protein konformasyonlarının bütünlüğüne bağlıdır. Bir enzim alt ünitelerine ayrıştırılırsa veya denatüre edilirse katalitik aktivitesi çoğunlukla yok olmaktadır; bir enzim aminoasit bileşenlerine yıkılırsa katalitik aktivitesi her zaman bozulur. Enzim proteinlerinin tersiyer, kuartern, sekonder ve primer yapıları katalitik aktiviteleri için gereklidir [11].

Bir takım enzimler sadece proteinden oluşurken, bazıları ise proteinin yanısıra protein olmayan bir bölümü de içerirler. Substrat, tepkimede etkin maddedir. Enzimlerin protein bölümüne “apoenzim” denir. Bu bölüm, enzimin hangi maddeye etki edeceğini belirler. Apoenzim ısıtılarak kolayca denatüre olur. Yapıları sadece proteinden ibaret olan enzimlere örnek vericek olursak elastaz, tripsin, üreaz, pepsin ve diğer hidrolaz sınıfı enzimler gösterilebilir [10].

Protein kısma yardımcı olan ve kendisi proteinden oluşmayan moleküllere kofaktör denir. Kofaktörler zorunlu iyonları ve koenzim olarak adlandırılan grup transfer moleküllerini içerir. Bunlar enzimatik işlem sonlandıktan sonra enzimler gibi tekrar eski hallerini alır. Kofaktörler substrat ile beraber aktif bölgeye bağlanarak enzim fonksiyonunun gerçekleşmesine yardımcı olur. Bunlar asit ya da baz gibi fonksiyon oluşturarak ya bağlı substrata proton salıvererek ya da substrattan proton alarak katalitik işleme katılır. Bazı kofaktörler ise substrattan elektron alır (elektrofilik) veya substrata elektron salıverir (nükleofilik). Kofaktörlerin bu özelliklerine göre kimyasal bağlar kırılır ya da yapılır. Özellikle Mn^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Co^{+3} , Ni^{+2} ve Fe^{+3} gibi çok çeşitli metal iyonları kofaktör olarak enzimlerin aktivitesinde rol oynar ve çok fazla enzimin aktivitesi için gereklidir ki bu tür enzimler “metalloenzim” olarak tanımlanır. Örneğin, demir içeren bir enzim olan katalaz, hücrelerde potansiyel hasar

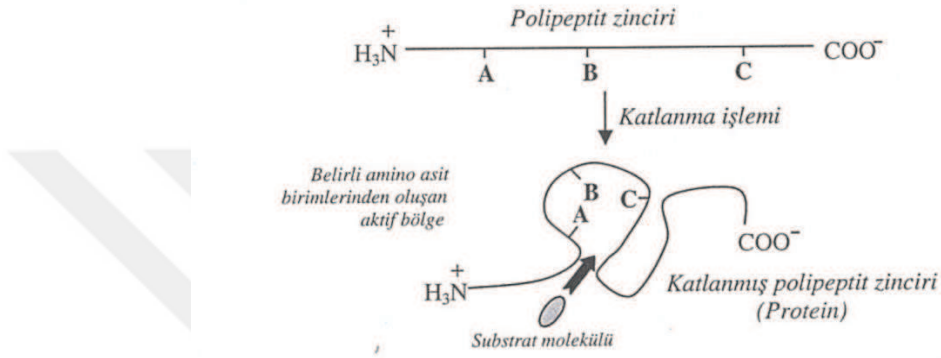
oluşturan bir madde olan hidrojen peroksitin parçalanmasını ve hasar ouşturmayan maddeleri katalizler. Aminoasitler yanında aminoasit olmayan yapıları da içeren enzimlere “bileşik (konjuge) enzim” veya “holoenzim” denir. Apoenzim ve kofaktörün birlikte oluşturduğu yapıya da holoenzim denir [10].

Koenzimler, inorganik veya organik, birden çok fosfattan oluşmuş, protein bulunduran bölümüne nazaran çok daha küçük moleküllü olan kısımdır. Enzimde asıl görev yapan bölüm bu kısımdır. Koenzim kısmı genel olarak apoenzim kısmından ayrılabilir ve analizlerinde birden çok vitamini (tiamin, niasin, riboflavin vs.) bünyesinde bulundurur. Koenzim içeren enzimlere nikotinamid nükleotidli enzimler örnek verilebilir. Bazı koenzimler de nükleotid yapısındadır. Örnek vericek olursak, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+), nikotinamid adenin dinukleotid fosfat ($NADP^+$) ve bileşik nükleotid olan koenzim A.

Koenzimler, apoenzimden kolaylıkla ayrılabilir ancak; tek başlarına katalitik etki göstermezler. Koenzim apoenzim bölümüne sıkı sıkya (kovalent) bağlanmışsa, bu kuvvetli bağlanan bölüme “prostetik grup” denir. Nükleotid içeriğinde olan prostetik gruplar da bulunmaktadır. Örneğin, flavin mononükleotid (FMN) ve flavin adenin dinükleotid (FAD) gibi [12].

Enzim molekülü üzerinde substrat bağlama özelliğine sahip bir bölge bulunur. Protein zincirinin bu kısmı enzimin katalitik etkisinde görevli olup “aktif bölge” olarak tanımlanır [12]. Bu bölge bir nokta, bir çizgi ve hatta bir yüzey olmayıp, enzimin lineer yapısının değişik noktalarında bulunan grupların biraraya gelerek oluşturdukları üç boyutlu karmaşık bir bölgedir [1]. Aktif bölge, geometrik olarak substratın yerleşebileceği bir cep şeklindedir ve bu cepteki aminoasit yan zincirleri özellikle bir türden substrat ile etkileşecek şekilde düzenlenmiştir. Dolayısıyla, hem şekil hem de fonksiyonel grup dağılımı açısından farklılık gösteren moleküller enzime etkin bir şekilde bağlanamaz ve böylece ürün oluşturmak üzere herhangi bir enzim-substrat kompleksi (ES) oluşturamaz. Enzimlerin aktif bölgeleri protein polipeptit zincirinin belirli bir düzende katlanması ve belirli aminoasit yan

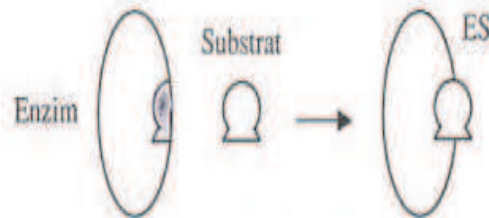
zincirlerinin biraraya gelmesi ile oluşturulur (Şekil 1.3). Farklı aminoasit yan zincirlerinin kimyasal ve fiziksel özellikleri, substratın aktif bölgeye bağlanmasına yardımcı olur. Substrat moleküllerinin bağlanması yanında bu yan zincirler kataliz olaylarına da katılabilir. Örneğin, aspartat ve glutamat gibi yan zincirinde negatif yük taşıyabilen aminoasitler pozitif yüklü bir substrat ile elektrostatik etkileşim yaparak bağlanabilir. Benzer şekilde lizin, histidin ve arginin gibi pozitif yüklü yan zincir taşıyan aminoasitler de negatif yüklü bir substrat ile bağlanabilir [10].



Şekil 1.3 Bir Polipeptit Zincirinin Katlanması ve Aktif Bölgenin Oluşumu [10].

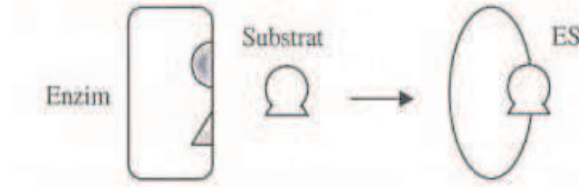
Enzimlerin, substratlar ile aktif bölgede uygun ve özel etkileşimi çeşitli modellerle açıklanmıştır. Bunlar; Anahtar-Kilit Modeli ve İndüklenmiş Uyum Modelidir.

Anahtar-Kilit Modeli: Fischer (1894) tarafından önerilen bu modelde enzim-substrat etkileşimi bir anahtarın özel bir kilidin anahtar deliğine yerleştiği gibi, substratın da enzimin aktif bölgesine yerleştiği şeklinde açıklanmıştır. Bu model, enzim özgünlüğünü açıklayabilmesine rağmen enzim katalizini açıklamada yeterli olmamıştır.



Şekil 1.4 Anahtar-Kilit Modeli [10].

İndüklenmiş Uyum Modeli: 1958 yılında Koshland tarafından önerilen bu modelde, hem enzim hem de substrat bağlanma sonucu şeklini değiştirir ve substrata geçiş halini alacak şekilde bir konformasyona zorlanır. Böylece, enzim substratı baskı altında tutar ve doğrudan katalitik olayın oluşmasını sağlar. Bu model için bazen eldiven benzetmesi de yapılmaktadır [10].



Şekil 1.5 İndüklenmiş Uyum Modeli [10].

1.1.3. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması

Enzimler, geçmişte katalitik etkilerini üzerinde bulundurdıkları substrat olarak adlandırılan bileşiklerin adlandırmalarının sonuna, “-az” eki konularak isimlendirilmiştir. Örneğin, üreyi CO_2 ve NH_3 ’a parçalayan enzime üreaz; fosfat esterlerinin hidrolizlenmesini katalizleyen enzimlere fosfataz; arginini ornitin ve üreye parçalayan enzime arginaz; denilmiştir. Bu isimler en azından substratlar ile ilgili bilgi verirlerken, hiçbir bilgi ifade etmeyen birtakım enzim isimleri de biyokimyacılar tarafından kullanılmıştır. Örneğin, katalaz, pepsin ve tripsin gibi. Gün geçtikçe birden fazla enzimin bulunması neticesinde, sistemi bir isimlendirme gerekli hale gelmiştir. Bundan dolayı enzimler, Uluslararası Enzim Komisyonu (E.C.) tarafından, katalizledikleri reaksiyon çeşitleri ve reaksiyon mekanizmalarına göre sınıflandırmaya sokulmuştur.

Sistematik isimlendirmenin başlıca özellikleri;

1. Reaksiyonlar ve reaksiyonları katalizleyen enzimler 6 gruba ayrılmıştır. Bu gruplarda kendi içlerinde 4 ile 13 arasında alt gruba bölünmüştür. Enzimin adı iki kısımda verilir. Birinci kısım substrat ve substratlarıdır. İkinci kısım ise katalizlenen reaksiyon çeşidinin sonuna “-az” eki eklenmiş şekli, yani

grup veya alt grup ismidir. Aralarına iki nokta koyularak yazılan maddelere substratlardır.

2. Reaksiyonun tabiatını açıklayacak tanımlar gerekiyor ise, parantez içinde ismin sonuna eklenebilir.
3. Tüm enzimlere sistematik bir kod numarası verilmiştir. Bu numaralar E.C. harflerinden sonra peşpeşe gelen dört rakamdan oluşmaktadır. İlk rakam enzimin bağlı olduğu grubu gösterirken, sonraki rakam alt grubu, üçüncü rakam ise alt alt grubu belirtir. Sonuncu yani dördüncüsü ise, enzimin aynı ilk üç rakama sahip enzimlerin arasındaki sırasını belirtir. Mesela E.C.2.7.1.1. kod numarasında ilk numara 2, bu enzimin transferaz enzimi olduğunu gösterir. İkinci rakam 7, bir fosfat grubu transfer edildiğini; üçüncü numara 1, fosfat transferinin alkol grubuna olduğunu ve sonuncu rakam 1 ise enzimin alkol grubuna fosfat transferi veren enzimlerin içinde birinci sırada olduğunu belirtmektedir. Mevzu bahis enzim hekzokinaz geleneksel ismiyle tanınan, ATP: D-heksoz 6-fosfotransferaz enzimidir [1].

Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB) 'ince öne sürülen ve kabul edilen sistematik isimlendirmede enzimler, 6 büyük sınıfa ayrılır; 6 sınıfın da katalizlenen reaksiyon tipine dayanan alt sınıfları mevcuttur [11].

1. Oksidoredüktazlar: İndirgenme ve yükseltgenme olayını katalizleyen enzimlerdir. Oksidoredüktazlar ek olarak oksijenazlar, sitokromlar, dehidrojenazlar, oksidazlar olmak üzere alt sgruplara ayrılabilirler. Fermentasyon ve solunum durumlarıyla alakalı enzimler oksidoredüktaz sınıfındaki enzimlerdir. Örneğin; laktat dehidrojenaz, katalaz.

2. Transferazlar: Fonksiyonel grupların bir molekülden diğer moleküle transferinin gerçekleştiği reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Glikozil gruplarını, tek karbonlu grupları, fosfat gruplarını, açıl gruplarını, aldehit ve keton gruplarını, kükürt buluduran grupları aktaranlar olarak birden çok alt gruplara bölünürler. Örneğin; aspartat transaminaz, kreatin kinaz.

3. Hidrolazlar: Bir kimyasal bağıın hidrolizini katalizleyen bir enzimdir. Hidrolazlar, glikozil bileşiklerine, ester bağlarına, eter bağlarına, asetanhidrit bağlarına, peptit bağlarına, diğer C-N bağlarına, C-C, C-P, C-halojen, C-S, P-N, S-S bağlarına etki edenler olacak şekilde alt sınıflara ayrılır. Örneğin; üreaz, lipaz.

4. Liyazlar: Bir organik moleküldeki grupların oksidatif veya hidrolitik olmadan ayrılmasını kataliz ederler. C-C, C-O, C-N gibi gruplar arasında çift bağ meydana getirerek substrattan birkaç grubun ayrışmasını katalizleyen enzimlerdir veya zıttı şekilde durum gösterirler. Örneğin; piruvat dekarboksilaz.

5. İzomerazlar: Substratın molekül içindeki farklılıklarını katalizleme yeteneğine sahip enzimlerdir. İntermoleküler transferazlar, epimerazlar ve rasemazlar, cis-trans izomerazlar, intramoleküler oksidoredüktazlar, intramoleküler liyazlar ve diğer liyazlar olacak şekilde alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; glukoz-6-fosfat izomeraz.

6. Ligazlar (Sentetazlar): İki molekülün biraraya gelmesini ligazlar kataliz ederler. Bu bütünleşme için gereken enerji ATP (Adenozin trifosfat), ADP (Adenozin difosfat) gibi büyük enerjili fosfat bileşiklerinden elde edilir. Örneğin; piruvat karboksilaz, asetil CoA karboksilaz [16].

1.1.4. Enzimlerin Çalışmasına Etki Eden Etmenler

Biyolojik sistemlerde enzimler az miktarda bulunmaktadır. Biyolojik sistemde gösterdiği aktivitenin miktarı hesaplanır, çünkü enzim protein miktarı çok küçüktür [17].

Bir enzim aktivitesi birimi: 25 °C’de 1 µmol substratı ürüne çeviren enzimin miktarı olarak kabul görmektedir.

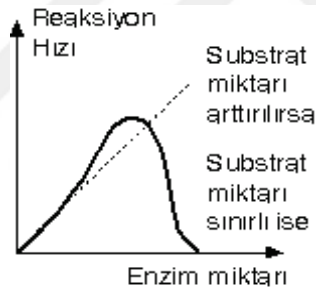
Özgül (Spesifik) Aktivite: Miligram protein başına düşen enzim aktivitesi olarak tanımlanır. Bu terim genellikle izole edilen enzimin saflığını kontrol altında tutmak gerekçesiyle kullanılır.

Dönüşüm Sayısı (k_{kat}): Her bir enzim molekülünce ürüne dönüştürülen substrat moleküllerinin sayısıdır [10].

Enzim reaksiyon hızına sıcaklığın, substrat konsantrasyonları ve enzimin ortam pH'ının, reaksiyon ürünlerinin, ışık, hormonların, zaman vb. gibi fiziksel faktörlerin etkisi bulunmaktadır [17].

1.1.4.1. Enzim Konsantrasyonu

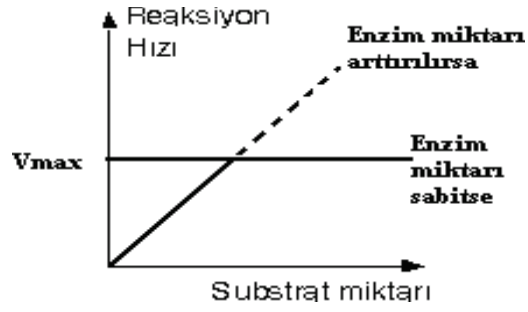
Substratın çok bol olduğu yerlerde optimal koşullarda enzimatik bir reaksiyonun hesaplanan ilk hızı (V_o), enzim konsantrasyonu ile paraleldir. Belli bir zaman sonra ortamda enzimin reaksiyona katılabileceği substrat az miktarda olduğundan hızı artarak düşmeye başlar [17].



Şekil 1.6 Enzim Konsantrasyonunun Reaksiyon Hızına Etkisi [17].

1.1.4.2. Substrat Konsantrasyonu

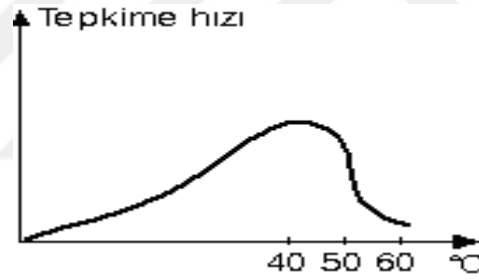
Tüm şartların ve enzim konsantrasyonunun stabil olduğu bir koşulda enzimatik tepkime hızı, substrat konsantrasyonunun eklenmesiyle başlangıçta doğrusal bir yükseliş gösterir; ancak substrat eklendikçe ortamda reaksiyona girebilecek enzim olmadığından hız artışı azalır ve belirli bir maksimum hız (V_{max}) seviyesinde sabitlenir [17].



Şekil 1.7 Substrat Miktarının Reaksiyon Hızına Etkisi [17].

1.1.4.3. Sıcaklık

Sıcaklık artışı enzimatik reaksiyonların hızını bir noktaya kadar artırır. Belirli bir sıcaklık limiti aşılsa enzimler de başka proteinlerde olduğu gibi denatüre olur yani bozunurlar. Tüm enzimlerin substratını en büyük farklılık gösteren belirli bir maksimum sıcaklık değeri vardır. Bu sıcaklık “optimum sıcaklık” olarak adlandırılır. In vitro enzim reaksiyonları genellikle 37-40 °C’de yapılmaktadır [17].



Şekil 1.8 Sıcaklığın Reaksiyon Hızına Etkisi [17].

1.1.4.4. Ortam pH’ı

Tüm enzimlerin maksimum aktivite gösterdiği bir pH aralığı bulunmaktadır. Bu pH’ya enzimin “optimum pH’ı” denir. Örneğin; pepsin pH 1-2 aralığında, üreaz ise pH 6-7 aralığında en büyük aktiviteyi oluştururlar. Enzimin optimum pH’sının üstünde ve altında reaksiyon hızı düşüktür. Enzim belirli bir pH’da tamamen etkisizleşir ve yapısı bozulur [17].

1.1.4.5. Zaman

Enzim ile katalizlenen bir reaksiyonun hızı, bir süre sonra düşer. Bu durumun nedeni, reaksiyon ürünlerinin kendi aralarında toplanarak zıt yönde bir reaksiyon meydana getirmeleri, enzimin zamanla aktif olmayan bir durumda olması, reaksiyonu önleyici maddelerin meydana gelmesi ve substratın tükenmiş olmasıdır [17].

1.1.4.6. Reaksiyon Ürünleri

Enzim reaksiyonu sürdükçe, reaksiyon ürünleri enzimi inhibe ettiklerinden ötürü enzim reaksiyonunun hızı düşmektedir. Bu inhibisyonun sebebi, reaksiyon ürünlerinin molekül yapısınca substrata benzemeleri ve enzime substrattan daha çok bağlanmalarıdır [12].

1.1.4.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler

Enzimlerin etkileri ışıkla azaltılabilir veya artırılabilir. Enzim çözeltilerinin güçlü çalkalanması da enzimin denatüre olmasına neden olur [12].

1.1.4.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Maddeler

Aminoasitler, hormonlar ve diğer birtakım biyokimyasal maddeler de enzim aktivitesi üzerinde farklılıklar oluşturabilirler. Örneğin, androjenik, östrojenik ve bazı steroid gebelik hormonları, glutamat dehidrojenaz enziminin dört alt sınıfını ayrıştırarak enzimin aktivitesinin kaybolmasına sebep olurlar ki bu durum, izolösin, metiyonin, ADP (Adenozin difosfat), lösin tarafından geri çevrilebilir [11].

1.1.6. Enzimlerin Kullanım Alanları

Bugün tarım, eczacılık, tıp, hayvancılık, kağıt, gıda, çevre, tekstil, deterjan vb. çokça sektörde enzimler kullanılmaktadır. Biyoteknoloji alanındaki gelişmelerle son yıllarda elde edilmiş olan enzimlerin en yoğun kullanıldığı alan gıda endüstrisidir.

Bu alanda en çok kullanılan enzimler amilazlar ve proteazlardır [19]. Enzimler, birçok gıdanın yapısında çok az bulunmalarına rağmen gıdalarda önemli görevler üstlenirler. Enzimler, gıdaların doğal yapılarını değiştirebilir ve bazı örneklerde bu değişiklikler kabul edilebilir ama birçok örnekte bu durum istenmez. Bu nedenle istenmeyen durumlarda enzimler inaktive edilirler. Bitkilerin kararması, istenmeyen değişikliklere bir örnektir. Bazı enzimler analitik metodlarda indikatör olarak kullanılır. Örneğin, fosfataz enzimi pastörizasyon işlemlerinde kullanılır.

Enzimler, gıda imalatında katkı maddesi olarak da kullanılırlar. Örneğin, rennin enzimi peynir üretimi sırasında sütte koagulan olarak kullanılır [20].

Enzim kullanımının en yoğun olduğu dallardan bir başkası ise deterjan endüstrisidir. Deterjanların bileşimi kullanılacakları alana göre değişiklik gösterebilen kompleks karışımlardır. Bazı deterjanlar alkali-proteaz (bazik) enzimlerini içerir bu enzimler, alkali koşullarda aktivite göstermektedir. Bazı deterjanların yapısında da lipazlar ve amilazlar kullanılmaktadır. Bu enzimlerin tesiri ile özel olarak protein, nişasta ve yağ etkisiyle oluşan kir temizlenir.

Yapılan birçok araştırma neticesinde, enzimlerin kullanım alanları gittikçe artmaktadır. Özellikle günümüzde rekombinant-deoksiribonükleik asit (DNA) teknolojisine eşlenik olarak, istenilen özellikte ve yeni enzim elde edilmesi mümkündür; buna bağlı olarak da enzim kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır [19].

Enzimlerden tıp alanında giderek artan bir ölçüde yararlanılmaya başlanmıştır. Enzimlerin nicelik ve nitelik tayinlerinin yapılabilmesi suretiyle kalıtsal anormallikler ve hastalıkların teşhisleri yapılmakta ve hastalığın geleceği ile ilgili fikir edinilebilmektedir. Bunun gibi birtakım hastalıkların tedavisi için enzim preparatlarından ilaç olarak yararlanılmaya başlanmıştır [18].

Kalıtsal olarak enzim yetersizlikleri sonucu ortaya çıkmış bulunan birçok hastalık, bu enzimlerin veya bunların katalize ettikleri reaksiyon ürünlerinin veya substratlarının gösterdikleri azalma veya artışa göre teşhis edilebilirler. Özellikle aminoasitlerin

metabolizmaları için gerekli enzimlerin bulunmayışı bir çok defa zeka ve gelişim geriliği ile kendini gösteren kalıtsal hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Aynı şekilde enzim yetersizliği, karbohidratlarla ilgili olarak glikojen depolama bozukluklarına sebep olabilir. Lipid metabolizması açısından da enzim yapımındaki yetersizliklerden doğan Gaucher (Dalak karaciğer ve kemik iliği hücrelerinde glukozilseramid birikimi ile oluşan genetik bir hastalık), Niemann-Pick (Sinir sisteminde kalıcı bozukluğa, karaciğer ve dalak büyümesine sebep olan kalıtsal bir hastalık) ve Tay-Sachs (Ölümcül resesif bir hastalık) gibi hastalıklardan söz etmek mümkündür [11].

Enzimler eczacılık alanında kullanılmaktadır. Bu alandaki en güzel örnekler, sindirim kolaylaştırıcı birtakım ilaçların içeriğindeki gıdalarımızın temel bileşenlerinden olan proteini parçalayan proteaz, yağları parçalayan lipaz, nişastayı parçalayan amilaz ve laktozu parçalayan laktaz enzimleridir. Enzimlerin eczacılık alanında kullanımına başka bir örnek de, penisilin amidaz enzimidir [19].

Eczacılık alanında bazı enzimler ilaç olarak kullanılabilir. Karaciğer, safra kesesi, pankreas hastalıklarından kaynaklanan sindirim bozukluklarında protein, karbohidrat ve lipidleri hidroliz eden enzimler ilaç olarak kullanılır. Yara tedavisinde, dokunun oluşması için peptit bağlarını ve heteropolisakkaritleri hidroliz eden enzimler kullanılmaktadır. Enzim inhibitörleride, ilaç olarak kullanılabilir (Tablo 1.1) [12].

Tablo 1.1 İlaç Olarak Kullanılan Enzim İnhibitörleri [12].

İlacın Adı	İnhibe Ettiği Enzim	Tedavi
Aspirin	Prostaglandin Redüktaz	Antienflamatuvar
Sülfanilamid	Dihidrofolat Sentetaz	Antibakteriyel
Hidrazinler	Monoamin Oksidaz (MAO)	Antidepresan, Psikostimülan
Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) İnhibitörleri	ACE	Antihipertansif

1.1.7. Hastalık Tanısında Enzimler

Enzimler genellikle hücrelerin içinde çok miktarda bulunurlar, plazmadaki konsantrasyonları ise hücre içine göre çok düşüktür. Hücre zarar gördüğü zaman (örn. virüs veya toksinle) hücre zarı parçalanır ve hücre içindeki enzimler dışarı çıkarlar, böylece plazma seviyeleri aniden 10^3 - 10^4 kat artabilir. Buna iki örnek, hepatit ve miyokard infarktüsüdür. Miyokard infarktüsünde koroner arterlerden biri bir pıhtı ile tıkanır ve kalbin o arter tarafından beslenen bölgesi oksijensiz kalır (İskemi). Bunun sonucunda o bölgedeki hücreler hızla bozulmaya başlar ve nekroz olur. Hücrenin içindeki enzimler hücre dışına çıkarlar. Hücre dışı sıvıdan sistematik dolaşıma geçen enzimlerin serum düzeyleri hızla artar. Bu ani artış hastalık tanısında kullanılan çok önemli bir parametredir. Aynı şekilde virüs veya herhangi bir toksinle infekte olan karaciğer hücreleri de nekroz olarak enzimlerini hücre dışına çıkarırlar.

Hastalık tanısında en çok kullanılan enzimler;

Serum pankreas amilazı: Bazı pankreas kanserlerinde ve pankreas iltihabında artar.

Serum asid fosfataz ve prostat spesifik antijen (PSA): Prostat kanserinde artar.

Kreatin kinaz (CK): Kas distrofisinde, karaciğer hastalıklarında ve miyokard infarktüsünde artar.

Glutamat okzalasetat transaminaz; Aspartat transaminaz (GOT; AST): Miyokard (kalp kası) infarktüsünde, karaciğer hastalıklarında ve sarılıkta artar.

Laktat dehidrojenaz (LDH): Kalp, karaciğer, kas hastalıklarında ve bazı kanserlerde (örn. lösemi) artar [12].

1.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, insan vücudunda serbest radikaller sebebiyle oluşabilecek oksidatif stresi bertaraf etmek için en önemli silahtır. Antioksidanlar hücre hasarını engelleyebilen ve serbest radikalleri temizleyebilen maddelerdir. İnsanda var olan antioksidanlar dışarıdan alınabildiği gibi vücut tarafından da doğal olarak üretilmektedir. Hem eksojen hem de endojen antioksidanlar serbest radikal

kovucu olarak hareket etmektedirler. Bu sebeple savunma sisteminin etkisini güçlendirerek hastalık ihtimalini de düşürürler [21].

Antioksidanların koruyucu etki göstermelerinin sebebi, normal hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri etkisiz hale getirmeleridir [22].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumuna mani olmak, bu maddelerin oluşturduğu hasarlara engel olmak ve detoksifikasyonu sağlayabilmek için vücutta vazifesi bulunan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” denilmektedir [23]. Antioksidanlar, otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddelerdir ve bunu da radikallerle çok hızlı bir şekilde reaksiyona girerek sağlarlar [24]. Antioksidanların işlevlerinden biri serbest radikallerin fazlasını etkisiz hale getirmek, serbest radikallerin toksik zararlı etkilerinden hücreleri korumak ve hastalıklara önlem almakta katkıları bulunmaktadır [25].

Günümüzde insanlar sağlıklı yaşam ve sağlıklı yaşlanma hususlarına son derece merak ve ilgi duymaktadır. Bu sebepten dışarıdan alınan besinlerin ve bu besinlere katılan katkı maddeleri büyük bir önem taşımaktadır [31].

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize eder. Vücudun onlardan etkilenmemesini dolayısıyla da vücudun kendi kendini yenilemesine yardımcı olan maddelerdir. Antioksidanlar hücreleri yıpratıcı serbest radikalleri ve reaktif oksijen çeşitlerini etken bir şekilde indirger. Düşük toksiteli ya da toksik olmayan ürünlere dönüştürür.

Antioksidanlar vücutta endojen olarak üretilir. Bunun yanında gıda yolu ile eksojen olarak da vücuda alınabilir. Besinlerde mevcut olan antioksidanlar insan sağlığına yararlı olduğu gibi gıda maddelerinin raf ömrünü uzatır. Oksidasyonu geciktirir ya da inhibe ederek besin değerlerindeki kaybı azaltır [32, 33].

Besin maddelerinde bulunan ve insan vücudunu serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar; flavonidler, polifenoller, vitaminler ve karotenoidlerdir. Antioksidan içeren gıda maddeleri ile beslenilirse önemli hastalıklarda azalma yaşanması mümkündür. Kanser, kalp ve damar hastalıklarındaki önemli ölçüde azalma buna örnektir [34, 35].

Yaşlanmaya karşı mücadelede ve bağışıklık sisteminin de olumlu yönde etkilemesi sebebi ile antioksidanlar oldukça önemlidir. Antioksidanlar biyokimyacılar ve diğer sağlık uzmanları için de önemli olan maddelerdir. Çünkü vücudu reaktif oksijen türlerine (ROT), reaktif azot türlerine (RAT) ve reaktif klor içerikli maddelere karşı koruma görevi üstlenirler. Butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer butilhidrokinon (TBHQ) piyasada yaygın olarak tercih edilen sentetik antioksidanlardır [36].

Antioksidanların oksidatif reaksiyonlar da gösterdikleri etki farklı şekillerde olabilir.

a) ROT oluşumunu önleyen sistemler: Bakır ve demir iyonlarını bağlayan metal şelatlayıcılar, mitokondride kendiliğinden meydana gelen ROT'ları indirgeyebilen mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi. ROT'lara örnek vericek olursak (süperoksit, peroksit vb.)

b) ROT'ları yakalayıp etkisiz hale getiren (nötralize eden) antioksidanlar: Flavonoidler, α - tokoferol, β -karoten, askorbik asit, indirgenmiş glutatyon, metiyonin, mukus ve ürik asit gibi. Bu grupta bulunan antioksidanlar radikalik zincir reaksiyonunun başlamasını inhibe eder ya da zincir reaksiyonunun ilerlemesinin önüne geçerek radikal reaksiyonunu bitirirler.

Antioksidanlar hücreleri yıpratın serbest radikalleri, reaktif oksijen çeşitlerinin neden oldukları zararı hücre dışı ve hücre içi savunma ile nötralize ederler. Hücre içi savunma glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon-S-transferaz ve sitokrom oksidaz gibi enzimler sayesinde elde edilir. Hücre dışı savunma ise ürik asit, albümin, transferin, bilirubin, seruloplazmin gibi farklı moleküllerle elde edilir [37, 38].

1.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, iki ana alt grup altında birleşebilir bunlar endojen ve eksojen olarak adlandırılır [26, 27]. Bu antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini kurabilmek için vücudu serbest radikallerden korur ve serbest radikalleri nötralize etmek amacıyla kullanılır [27].

Tablo 1.2 Antioksidanların sınıflandırılması [27].

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q ₁₀
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
VİTAMİN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin) Nötrofil adezyon inhibitörleri Sitokinler (TNF ve IL-1) Barbitüratlar Demir şelatörleri	

1.2.1.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen içerikli antioksidanlar, iki alt grupta sınıflandırılabilirler bunlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak adlandırılırlar [22,25,26].

1.2.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon redüktaz (GR) ve Glutasyon peroksidaz (Gpx) enzimatik savunma hattını meydana getiren enzimsel antioksidanlardır [22,25,29,30].

1.2.1.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Enzimsel olmayan antioksidanların içinde glutasyon, melatonin, albümin, bilirubin, ürik asit, koenzim Q₁₀, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin dahil edilebilir [22,25,27-30].

1.2.1.2. Eksojen Antioksidanlar Eksojen içerikli antioksidanları, ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ve vitamin eksojen antioksidanlar olmak üzere iki başlıkta inceleyebiliriz.

1.2.1.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar Folik asit (Vitamin B9), askorbik asit (Vitamin C), α -Tokoferol (Vitamin E) ve β -karoten (Vitamin A) dışarıdan elde edilen vitamin içeren antioksidanlardır [23,24,26].

1.2.2. Antioksidanların Başlıca Özellikleri

- i. Fizyolojik olarak zararı olmamalıdır.
- ii. Yağ veya yağlı ürünlerin kokusunu, tadını, görünüşünü etkilememelidir.
- iii. Yemeklerin pişirilmesi esnasında birlikte hazırlanmış besinleri etkilememelidir.
- iv. Yağda yeterli sayıda çözünmeli ve yağ ile karışabilmelidir.
- v. Küçük derişimlerde bile etkili olmalıdır.
- vi. Çok kolay bulunabilmelidir.

1.2.3. Antioksidanların Faydaları

Antioksidanlar, serbest radikallerin sebep olduğu bütün hastalıklara karşı vücudu korur. Kalp rahatsızlıkları ilk sırada yer alırken diyabet, makuladejenerasyonu ve

kanser gibi hastalıkları ve bu rahatsızlıkların yanı sıra bulaşıcı özellik gösteren hastalıklara karşı vücudu koruyucu görev üstlenirler. Antioksidanlar, bu rahatsızlıkları iyileştirmek için değil, bu rahatsızlıklara yakalanmamak için koruyucu ve tedbir olarak kullanılmalıdır [39].

1.3. Tirozinaz Enziminin Biyokimyası

1.3.1. Tirozinazın Adlandırılması

Tirozinaz enzimi vücutta melanin sentezinin fazla salgılanmasından kaynaklanan ciltte oluşan lekeler gibi hiperpigmentasyon sorunlarında ve psoriasis, vitiligo gibi melanin sentezinin yeteri kadar bulunmamasından ötürü hipopigmentasyon sorunlarında önemli rol oynayan bir enzimdir.

Tirozin 1846'da Alman kimyager Justus von Liebig (Yustus fon Libig) tarafından peynirde bulunmuştur. Proteinleri oluşturan 20 aminoasitten biri tirozinazdır. Yan zincirinde amit fonksiyonel grubu barındırdığından polar özellik gösterirler. Amit grubunun haricinde benzen halkası bulundurur. Non esansiyel, glukojenik ve ketojenik asittir.

Tirozinaz (Polifenol oksidaz); yüksek bitkilerde, funguslarda ve hayvanlarda bulunan, moleküler oksijeni kullanarak monofenollerin *o*-difenollere hidroksilasyonunu, odifenollerinde *o*-kinonlara oksidasyonunu katalizleyen bir enzimdir ve bakır içerir.

Tirozinaz (EC. 1.14.18.1), memeliler, bakteriler ve bitkiler de içinde olmak üzere büyük canlı gurubu yelpazesinde yer almaktadır. Krezolaz ve katekolaz aktivitesi olarak iki farklı aktivite barındırır [40]. Tirozinazlar (polifenoloksidaz-EC.1.14.18.1) oksidoredüktaz grubu enzimlerdir ve kofaktörleri bakırdır. Moleküler oksijen bulunuyorsa *o*- ve *vic*-OH gruplu (3,4,5-trihidroksi) fenolik bileşikleri

oksitlemelerinin yanında monofenollerin o-dihidroksifenollere dönüştürülmesinde de görev aldıkları bilinmektedir [41]. 1856 senesinde Schoenbein ilk defa yenilebilen mantarlarda bulmuştur. Daha sonra birden çok sebze ve meyvede tirozinaz keşfedilmiş ve karakterize edilmiştir [42]. Tirozinazlar, bitkilerin viral veya mikrobiyal enfeksiyonlara direnme gücü sergilemesinde büyük etkileri bulunmaktadır. Bununla birlikte, bitkilerin zorlu hava şartlarına karşı direnç göstermelerinin diğer sebebi de tirozinazların var olmasıdır. Gıda teknolojisi bakımından tirozinaz oldukça kıymetli bir enzimdir. Enzimatik kararma bilim insanlarını zorlayan bir durumdur. Muz, armut, elma, şeftali gibi meyvelerde, patates, yemeklik mantar gibi sebzelerde işleme ve saklanmaları esnasında enzim sorun çıkarmaktadır.

Tirozinaz, hayvan ve bitki dokularında fazla miktarda bulunan bir enzimdir. Bitkilerde bütün bölümlerde olabilirken, gelişmiş hayvanlarda saç, tüy, deri ve gözlerde vardır. Bitkisel dokularda öncelikli olarak aktif olmayan formda sentezlenmekte ve zaman zaman farklı etkenlerle, etilen ve proteaz gibi bazı solunum metabolitlerince aktive edilmektedir. Yenilebilir bitkilerdeki tirozinaz dağılımı, farklı bilim insanlarınca araştırılmıştır. Son zamanlarda değişik kaynaklardan da izole edilmiş ve bu kaynaklar hakkında araştırmalar yapılmıştır. Tirozinaz aktivitesi saptanan bazı gıda maddeleri; enginar, çay, cassava bitkisi, muşmula, ananas, patlıcan, napoleon üzümü, anamur muz, zambak, çilek ve elma olarak sayılabilir. Bitkilerdeki tirozinaz miktarı kültürel işlemler, çeşit, erişkinlik ve yıllanmaya bağlı olarak değişir [43]. Tirozinazlar sebze ve meyvelerin depolama, hasat ve işleme kalitesi maddiyatını belirleyen değerli enzimlerdir. Oksijen geçişine sebep olan depolama, işleme ve hasat esnasındaki kesilme, zedelenme ve başka mekanik zararlar birçok sebze ve meyvelerde melonin oluşmasına, bu da çabucak kararmaya sebep olmaktadır. Esmerleşmeden dolayı meyveler yüksek miktarda fire verirler. Kayısı, şeftali, muz gibi bazı yapraklı meyvelerde olmaması gereken kararmalar olmaktadır. Bunların yanı sıra, kakao, çay, siyah üzüm, kahve ve siyah incirlerde tirozinaz aktivitesi beklenen bir olaydır [43]. Çünkü tirozinaz enzimleri ile bu ürünler istenilen son ürün özgün karakterlerine dönüşürler.

Enzimatik kahverengileşme bazen de istenen durumlar arasında yer almaktadır. İncir, çekirdeksiz kuru üzüm, siyah çay ve hurmaların güzel renkleri, açık renkli meyvelerden elde edilen meyve suyu ve içkilerin altın sarısı renkleri kontrollü bir kahverengileşme ile meydana gelir [42]. Birçok bitkisel kaynaktan tirozinaz enzimi izole edilip saflaştırılmaya çalışılmış; reaksiyon mekanizması ve yapısı aydınlatılmaya çalışılmıştır: Fasulye [44], armut [45], kereviz [46,47], kuşburnu [48]. Tirozinaz aktivitesi, optimum pH'ı enzimin kaynaklarına ve substratlarına göre genellikle pH 4,0 ve 7,0 arasında değişir. Çok sayıda kaynaktan elde edilen tirozinazın, pH 4,0'ın altında aktif olmadığı belirtilmiştir [46,48-50].

Bu enzimin kullanıldığı sektörler araştırıldığında melanin sentezi, bu enzimin tercih edildiği en kritik noktalardandır. Melanin saçın ve derinin rengini veren unsurlardan biri olan polifenol benzeri kompleks yapısında bulunan biyopolimerdir. Melaninin işlevi, deriyi UV ışınlarından korumak ve reaktif oksijen türlerini yok etmektir. Tirozinaz, melanin sentezindeki iki kritik tepkimeyle L-tirozinin monofenolaz ile hidroksilasyonu ve L-dopanin (DOPA) (dopamin) difenolaz ile dopakinona oksidasyonukatalizler. Melanin pigmentinin fazla salgılanmasından dermatolojik bozukluklar oluşmaktadır. Tirozinaz inhibitörleri, dermal melanin üretiminde baskı gösterdikleri için anti- hiperpigment ve beyazlatıcı ajanları şeklinde kullanılmaktadırlar. Bugünlerde medikal ve kozmetik sanayide tirozinaz inhibitörlerinin değerleri katlanarak artmaktadır. İnsan beyninde, tirozinaz, nöromelanin oluşumunda önemli rolleri vardır. Böyle durumlarda dopamin nörotoksitesine ve hatta Parkinson rahatsızlığıyla bağlantılı nörodejenerasyona bile neden olabilmektedirler. Gıda sektöründe ise tirozinaz inhibitörleri meyve ve sebzelerin veriminin kontrol altında olması için tercih edilmektedirler. Tirozinaz sebze ve meyvelerde kararmaya sebep olan, fenolik bileşiklerin kinonlara oksidasyonunda görevleri bulunmaktadır.

1.3.2. Tirozinaz Enziminin Doğadaki Dağılımı

Tirozinaz enzimi ilk olarak 1856 yılında Schoenbein tarafından yenilebilen mantarlarda tespit edilmiştir [50]. Daha sonrasında, bazı turuncgiller dışında, birçok sebze ve meyvede tirozinaz enzimi tespit edilmiş ve karakterize edilmiştir [40].

Tirozinaz doğada bol miktarda bulunmaktadır. Bitkiler aleminde bulunmasının yanında mikroorganizmalarda öncelikli olarak bazı hayvansal organlarda, funguslarda ve ayrıca kabuklu deniz hayvanlarında da çok miktarda varolan enzimdir. Bunun yanı sıra birkaç toprak türünde glikoz oksidaz gibi oksido redüktaz enzimlerinin yanında tirozinaz enziminin aktivitesi ve varlığı bilinmektedir [51,52]. Farklı bitkilerin tirozinaz içeriği türeve bitkinin yetiştirilme tarzına göre farklılık göstermektedir. Hatta, aynı organizmanın farklı organlarında bile değişik karakteristik özellikler tespit edilmektedir. Birden çok meyve ve sebzenin yapısında; zeytinlerin, özellikle katekol substratı üzerine, en fazla tirozinaz aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır [53]. Enzimin bitki hücrelerindeki lokalizasyonu bitkinin yaşına; türüne sebze ve meyvelerde ise erişkinliğe bağlıdır [54,55].

1.3.3. Tirozinazın Katalizlediği Reaksiyonlar ve Mekanizmaları

Uluslararası Biyokimya Derneği'ne bağlı enzim komisyonu tarafından tespit edilen sınıflandırmada, bütün tirozinazların, yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarını katalizledikleri için, en kaliteli enzim oldukları bazı deneylerle bulunmuştur. Bu sınıflandırmaya göre içeriğinde bakır bulunduran tirozinaz enzimi moleküler oksijen varlığında birbirinden bütünüyle farklı iki aktivite göstermektedir. Bunlardan ilki, monofenollerin *o*-difenollere *o*-hidroksillenme reaksiyonudur (E.C.1.14.18.1) ve enzimin bu aktivitesi, monofenolaz veya kresolaz aktivitesi olarak bilinmektedir. İkincisi ise, *o*-difenollerin *o*-kinonlara oksidasyonu ile sonuç veren reaksiyondur (E.C.1.10.3.2) ve enzimin bu aktivitesi de katekolaz veya difenolaz aktivitesi şeklinde tanınmaktadır [56,57].

1.3.4. Tirozinazın Substratları

Meyve ve sebzeler farklı fenolik bileşikler barındırırlar. Fakat bu bileşiklerin küçük bir bölümü tirozinaz enzimine substrat olarak kullanılabilir. Polifenol bileşiklerinin enzim katalizli reaksiyonlar neticesi sebze ve meyvelerde renk değiştirmelerine sebep olmalarıyla birlikte, meyvelerin lezzetlerine de etkileri bulunmaktadır.

Polifenol bileşikler, enzimatik olmayan reaksiyonlarla da renk bozulmalarına neden olurlar. Bu bileşiklerden birkaçı oldukça basit bir şekilde kendiliğinden otooksidasyona uğrarlar ve oluşan bileşikler polimerleşerek koyu renkli makro molekülleri oluştururlar [58,59]. Tirozinazın sebze ve meyvelerdeki en önemli doğal substratları felavonoid tipi fenollerle, basit fenollerdir. Bunlardan birkaçı katekinler, sinamik asit esterleri, L-DOPA'nın, 3,4-dihidroksifenil alanin, 3,4-dihidroksifenil etilamin ve tirozindir. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir [60].

Doğal fenolik substratların her birinin sebze ve meyvede neden oldukları enzimatik kararmaya faydaları fenollerin konsantrasyonuna ve lokalizasyonuna bağlı olduğu kadar, farklı kinonlardan sentezlenen makromoleküler pigmentlerin renk şiddetiyle de bağlantılıdır. Bazı sebze ve meyvelerde tirozinazın ana substratı bitki materyallerinde genel olarak bulunmayan fenolik bileşiklerdir [61,62]. Şeker pancarı tirozinaz enzimi, tirozine karşı aktivitesi yokken L-DOPA'yı dehidrogenasyona uğratmaktadır. Fakat ilgi çekici olan şudur ki şeker pancarı dokularında çok küçük miktarda L-DOPA bulunurken, çok fazla miktarda tirozin bulunmaktadır [63]. Bu da bazı araştırmacılar tarafından söylenmekte olan "Tirozinaz enziminin elde edildiği bitkilerde her zaman en iyi tirozinaz substratları bulunmaz" tezini desteklemektedir [64,65]. Substrat spesifikliğı sadece sebze ve meyvenin türüne bağlı değildir ayrıca belirli bir seviyeye kadar enzimin sebze ve meyvenin ekstrakte yapıldığı bölümüne ve yetiştirilmesine bağlıdır. Aktivitenin incelendiğı pH'da substratın kullanılabilirliğini etkiler [66,67].

1.3.5. Enzimatik Kararma

Sebze ve meyvelerin depo edilmesi sırasında ve çarpma, kesme, dilimleme, kabuk soyma gibi mekanik hasar sonucunda bazı renk değışiklikleri meydana gelmektedir. Pembeden, mavimsi-siyaha kadar olan değışik tondaki bu renk farklılaşmalarına kararma denir. Tirozinaz enzimi, meyve ve sebzelerde çok miktarda bulunan fenolik bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyerek, onları *o*-kinonlara yükseltger ve bunların polimerizasyonu sonucunda kararmaya sebep olan kahverengi melanin pigmentlerinin oluşmasına sebep olmaktadır [68].

Meyve sularının ve dondurulmuş sebze ve meyvelerin endüstriyel gerekçeyle hazırlanmaları esnasında ortaya çıkan bu tür reaksiyonlar niteliğini düşürerek, ürünün pazar değerini ve kalitesinde azaltır. Ayrıca karides, istakoz ve yengeç gibi kabuklu deniz hayvanlarının hazırlanmaları ve depolanmaları esnasında kabukta oluşan ezilmeler sonucu, tirozinaz enziminin etkisiyle meydana gelen melanozis sonucu oluşan siyah renkli lekeler ürünün değerini ve kalitesini düşürür [69]. Esmerleşme reaksiyonuna sebep olan nedenler üç grup altında birleşmektedir;

- i. Enzimlerin sebep olduğu esmerleşme reaksiyonları.
- ii. Enzimatik olmayan oksidatif esmerleşmeler.
- iii. Maillard reaksiyonu sonucu oluşan esmerleşmeler.

Bu reaksiyonlar arasında en yaygın olarak bilinen enzimatik esmerleşme reaksiyonlarıdır. Enzimatik esmerleşme tahıl, meyve ve sebzelerde doğal olarak varolan tirozinaz enziminin neden olduğu bir oksidasyon reaksiyonudur. Normal şartlar altında enzim hücre içerisinde oksijenden temassız bir biçimde bulunur. Ancak, sebze veya meyve zedelendiği yada kesildiği sırada enzim hücre dışına çıkarak moleküler oksijen varlığında bazı fenolik bileşiklerle reaksiyona girerek renkli bileşikler meydana getirir [70,71].

Enzimatik kararmanın gerçekleşmesi için tirozinaz enzimi, bunun etki ettiği polifenolik madde ve moleküler oksijenin beraber olmaları gerekmektedir. Ayrıca sıcaklık, pH gibi enzim aktivitesini direkt olarak etki eden şartların uygun bir seviyede olması gerekir. Enzimatik esmerleşme fenolik madde, moleküler oksijen ve tirozinaz enziminden birinin ortadan kaldırılması ile durdurulur veya azaltılabilir. Aynı zamanda böyle esmerleşme reaksiyonları ısı inaktivasyonu, substratların uzaklaştırılması, askorbik asit ve sodyum sülfite ilave edilmesi, ortamın pH'sının düşürülmesi veya yüksek basınç uygulanarak önüne geçilebilir [72].

Enzimatik kararma reaksiyonlarında meydana gelen ilk kilit madde olan *o*-kinonlar, renk olmayan bileşiklerdir ve kendileri direkt olarak renk bozunmasına sebep

olmazlar. Fakat oluşan *o*-kinon ve türevlerinden sonrasında dimerler oluşur ve nihayetinde bunlar çok büyük molekülü bileşiklere polimerize olurlar. Renk bozulmalarının asıl sebebi, esmer renkli olan polimerlerdir [73,74].

Diğer enzimatik esmerleşme reaksiyon türü ise, fenolik bileşiklerden türemiş kinonların, serbest aminoasit ve proteinlerle esmer polimerleri oluşturmalarıdır [73]. Patateste ve kazein içeren karışık besinlerde, okside olmuş klorojenik asidin kazein ile olan reaksiyonları, bu türden reaksiyonlardır.

1.3.6. Tirozinaz İnhibitörleri ve Enzimatik Kararmanın Önlenmesi

Mantarların ve diğer besinlerin olgunlaşması, depolanması ve işlenmesi sırasında, enzimatik esmerleşmeden ortaya çıkan ciddi maddi kayıplara sebep olduğu için, enzimatik esmerleşmenin kontrolü, besin işleme endüstrisinde çok fazla önemli olup tarafından da ilgi ve alaka görmektedir. Tirozinaz katalizli esmerleşme, yalnızca enzimin inaktive edilmesiyle değil, aynı zamanda enzimatik reaksiyon için gerekli olan oksijen veya fenolik substratın ikisinin ya da birinin ortamdaki uzaklaştırılmasıyla da engellenebilir. Ayrıca enzimatik esmerleşme, enzimatik olarak oluşturulan kinonik ürünlerin bloke ve enzimatik olmayan reaksiyonların neden olduğu renkli bileşiklerin oluşumunun önüne geçilmesiyle engellenebilir [75]. Tirozinazın birçok inhibitörü tanınmaktadır ve günümüzde kararmayı engellemek için bu inhibitörlerden bazıları tercih edilmektedir. Kullanılan inhibitörler, besinlerde enzimatik esmerleşmeyi sonlandırabilen, yiyecek kalitesine etkisi bulunmayan ve sağlıklı olan maddeler olmalıdır [76].

Tirozinazlar, doğada çok yaygın olarak bulunan maddelerdir ve birçok çiçeğin renginden de mesuliyetleri olduğu için bitki tanninleri olarak ta tanınırlar. Bunlardan bazıları kompleks bileşiklerdir ve bitkilerin kabuk, kök ve yapraklarında bulunurlar. Basit yapıda bulunanları ise genellikle taze sebze, meyve ve çayda bulunurlar. Bazı potansiyel tirozinaz inhibitörleri; kompferol, kuersetin, kukarinon ve kusnol gibi çok miktarda bitkiden izole edilen flavanoidlerdir [77,78]. Yapılan bu çalışmalara göre flavanoidlerin inhibisyon özelliği, aktif bölgedeki bakırla şelat oluşturabilme

kapasitesinden ileri gelmektedir. Mantar tirozinazının benzoik asit ile inhibisyonu substrat olarak katekol tercih edildiğinde yarışmalı inhibisyon, O₂ kullanıldığında ise yarışmasız inhibisyon olarak bulunurken aynı enzimin aynı substratlarla siyanid ile inhibisyonu ise sırasıyla yarışmasız ve yarışmalı inhibisyonlar mevcut olmuştur. Bu durum enzim molekülü üzerinde iki farklı substrat bağlama bölgesinin varlığı ile tanımlanabilir. Bu bölgelerden ilki fenolik substratları içeren aromatik bileşikler için yüksek afinite bulundururken, diğer bölge ise oksijen ve metal bağlama fonksiyonlarından mesul bakır ihtiva eden kısımdır [79,80].

1.3.7. Tirozinazın Saflaştırılması

Tirozinaz'ın başlıca özelliklerinden biri, bitki dokularında inaktif bir biçimde bulunabilme yeteneğidir. Fakat, asit-bazlar, üre, poliaminler, anyonik deterjanlar, proteazlar ve yağ asitleri tarafından aktive edilebileceği bildirilmiştir [81,82]. Enzimin aktif olmayan formunda izole edilebilmesi için aktivasyonunu veya modifikasyonunu engellemek amacıyla, uygun koşullarda çalışılması gereklidir. Bitkisel örneklerin, soğuk aseton ile toz haline getirilmesi veya amonyum sülfat ile çöktürülmesi, bu tür bir işlem için oldukça uygun bir yöntemdir. Böyle bir işlemle sentezlenen özütlerde, daha sonra Triton X-114, Triton X-100 veya Tween-80 gibi iyonik olmayan bir deterjan yardımıyla ve sıcaklıkla indüklenmiş faza katılma tekniği olarak adlandırılan bir işlemle meydana gelen iki fazdan, sulu fazda enzimin çözünürleştirilip diğer bileşenlerden ayrılması gerçekleşmiş olur [83]. Bazı bitkisel özütlerden tirozinaz bulunduran dokuların homojenizasyonu esnasında, doku hasarına bağlantılı olarak meydana gelen ve fenolik bileşiklerin oksidasyonu ile ortaya çıkan esmerleşme reaksiyonları dolayısıyla oluşan ve suda çözünürlüğü çok düşük olan pigmentler, işlem esnasında sorun olabilir. Bu sebeple düşük sıcaklıklarda çalışmak, bu sorunu bir ölçüde azaltabilir ki sıvı azot ortamında bu tür bir homojenizasyon işlemi, uygun tampon çözeltiler varlığında gerçekleştirilebilir [83,84].

Asetonile enzimin bitkisel özütlerden çöktürülmesi de oldukça tercih edilen bir yöntemdir ve böyle bir işlemle genellikle oldukça yüksek tirozinaz aktivitesi elde

edilmiştir. Homojenizasyon çözeltisinin pH değerinden enzimin aktivitesi etkilenebileceğinden, tampon çözeltinin seçimi de enzimin izolasyonunda önem taşır. Bazı durumlarda, homojenizasyon çözeltisine, çeşitli indirgenme-yükseltgenme olaylarını engellemek ve böylece enzim aktivitesini korumak gerekçesi ile, indirgen reaktifler ya da enzim inhibitörleri dahil olabilir. Sodyum azid, askorbik asit, glutatyon, ditiyotritol, sistein, sodyum metabisülfid veya tiyoüre gibi çeşitli bileşikler bu gerekçeyle kullanılmıştır [85]. Tirozinazın bitki dokularından izolasyonu esnasında, fenolik bileşiklerin oksidasyonunun ve dolayısıyla polimerleşmelerinin önüne geçilmesi amacıyla, çoğunlukla ortama, bu fenolik bileşikler bağlayıp ortamdan uzaklaştırabilecek ve genel olarak polimerik yapıda olan polivinilpirrolidin, poliamit ve polikaprolaktam gibi bir madde eklenir. Daha sonra bu polimerik yapı, ortamdan uygun tamponlarla yıkama yöntemiyle uzaklaştırılarak, fenolik oksidasyonun önüne geçilmiş olur. Bazı durumlarda da polietilen glikol bu çeşit oksidasyon işlemlerini engellemek amacıyla tercih edilmektedir [86].

Homojenize edilen enzim ekstratlarından tirozinaz saflaştırılması, genellikle amonyum sülfat veya aseton ile çöktürmeyi takiben, kromatografik basamakları içerir. Bu kromatografik işlemlerde santrifüjlenip hazırlanan duru çözelti, dietilaminoetil (DEAE)-Sephadex veya DEAE-selüloz gibi anyon değiştiricileri üzerinde iyon değişim kromatografisi, Sephadex G-100 veya Sephadex G-200 üzerinde jel filtrasyon kromatografisi ve hidrofobik etkileşim kromatografisi işlemlerine tabi tutulur [87]. Kromatografi sonrasında, tirozinaz bulunduran elüatlar birleştirilir ve bazı durumlarda asetonla veya amonyum sülfatla çöktürülerek tirozinaz konsantre edilir. Bazı dokulardan tirozinazın saflaştırılması için bu kromatografik yöntemlerden biri yeterli iken, çoğunlukla kombinasyonları biçiminde kullanıldığında, çok yüksek saflıkta enzim saflaştırılması gerçekleştirilebilir. Örneğin, fasulye de ki tirozinaz, DEAE-Sephacel iyon değişim kromatografisi, ardından fenil agaroz matriksi üzerine hidrofobik etkileşim kromatografisi ve son olarak da Sephadex G-100 jel filtrasyon kromatografisi ile üç basamaklı kromatografik yöntemler kullanılarak saflaştırılmıştır [88].

Gawlik-Dziki ve arkadaşları (2007) tarafından, iki kromatografik yöntem sırasıyla kullanılarak, bir tür marul tirozinazı, DEAE-Sephadex A-50 iyon değişim kromatografisi ve Sephadex G-100 jel filtrasyon kromatografisi teknikleriyle saflaştırmıştır [89]. Bir tür mantar tirozinazı ise, DEAE-selüloz iyon değişim kromatografisi ve onun ardından da hidroksiapatit kromatografisi ile saflaştırılmıştır [90]. Ayrıca, daha önce fenil Sepharose-CL-4B hidrofobik etkileşim kromatografisiyle tirozinaz, tek basamakta farklı bitki kaynaklarından saflaştırılmıştır [91,92]. Yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan jel filtrasyon kromatografisi ile de tek adımda tirozinaz saflaştırma işlemi, Chazarra ve arkadaşları (2001) tarafından bir tür maruldan; Xu ve arkadaşları (2004) tarafından bir tür kestaneden; Erat ve arkadaşları (2006) tarafından *Ferula* sp.'den gerçekleştirilmiştir [93,94].

1.3.8. Bulunduğu Yerler ve Önemi

Polifenoller ve tirozinaz bitkilerde çok miktarda vardır. Bunun haricinde mikroorganizmalarda (Bazı küf ve bakterilerde) bilhassa mantarlarda bazı hayvansal organizmalarda da bulunabilir [95]. Bazı kabuklu deniz hayvanlarında da (Küçük karides, beyaz karides, Florida dikenli ıstakoz gibi) tirozinaz enzimin var olduğu saptanmıştır [96]. Bitki hücrelerinde enzimin lokalizasyonu enzimin türüne, enzimin yaşına, meyve ve sebzelerde erişkinliklerine bağlıdır [97].

Tirozinazların dayanıklı bitki dokusundaki hücrelerin protoplazmalarında kloroplast ve mitokondri membranlarında belirlenmiş olup, vakuollerdeki tanen, organik asit ve fenolik maddelerden müteessir olmadan fizyolojik vazifesini yaptığı saptanmıştır [95,97]. Fakat, doku nedeniyle hücre bir dış sebepten dolayı zedelendiğinde, parçalandığında veya fazla erginlik neticesinde tirozinaz; substratları olan polifenoller ile etkileşime girip moleküler oksijen var ise enzimatik kararma başlamaktadır. Bu durum çok miktarda sebze ve meyvenin hasat edilmesinden taşıma, depolama ve tüketimine kadar geen sürede gerçekleşmektedir. Ayrıca konserve, sıkılarak meyve suyu yapımı veya dondurarak saklama gibi teknolojik

sistemlerin gereği olarak kabuk soyma, dilimleme, çekirdek çıkarma, kesme, ezme ve parçalama veya çözme gibi teknolojik işlemlerde çok önemli yerleri vardır [95].

1.3.9. Biyolojik İşlev ve Tirozinazın Dağılımı

İnsanlarda, melanin eksikliğinde ciltte, saçta ve gözde rahatsızlıklara sebep olur. Albinizm, vitiligo ve melanoma bunlardan birkaçıdır.

Günümüze kadar tirozinaz genellikle görülmüştür. Bunun yanı sıra, homoloji protein veri tabanları ve deneysel verilerle yükselir. Tirozinazların bakterilerde de çok yaygın olduğu saptanmıştır [98]. Melaninler bakterilerde tirozinazın en iyi kanıtlanmış fonksiyon oluşumudur. Melanin, bir polifenolik pigment, bakteri sporlarını ve hücreleri serbest radikallere ve UV radyasyonuna karşı koruma görevini üstlenir [99].

1.3.10. Tirozinazların Endüstriyel Uygulamaları

Tirozinaz, kağıt sanayisinde kağıt hamuru yapımında, tekstil sanayisinde, çevre ve ilaç teknolojisinde bazı biyoteknolojik uygulamalar için çok kullanışlıdır. Gıda sektöründe, tirozinaz istenmez, fakat bu enzimlerin kararar etkileri, çeşit çeşit yararlı sebepler için tercih edilmektedir. Tirozinaz ile özellikle laktazlarla ilgili çapraz bağ biyopolimerleri [100] elde edilebilir. Tirozinazlar bunların yanı sıra antioksidan ve besin renklendirici biyosentezi [101] gıda da farklı özellikleriyle tirozinazların uygulamaları renk oluşması çay, kakao, kahve tat geliştirmesini bulundurur ve şeker pancarı, askorbik asit tayini, pektin jelleşme ve biyosensör olarak uygulanır aynı zamanda sanayide kullanılır [102].

Bu çalışmada, Giresun yöresinde yetişen 16 çeşit yenilebilir bitkinin farklı polariteye sahip çözücülerdeki ekstraktlarının, bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (CUPRAC) ve anti-tirozinaz aktivitelerinin spektrofotometrik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Özen, yapmış olduğu çalışmasında Karadeniz Bölgesi'nde yetişen yöresel bitkilerin 100 µg/mL konsantrasyonundaki etanollü ekstrelerinin demir indirgeme gücünü incelemiştir. Bitki ekstrelerinin demir indirgeme gücü absorbands değerlerini 0,184-0,234 arasında bulmuştur. Aynı konsantrasyonda standart antioksidan olarak kullandığı BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen)'nin demir indirgeme gücünü 0,247±0,011 olarak belirlemiştir. Çalıştığı bütün bitkilerin antioksidan özellik gösterdiğini belirten Özen, en yüksek aktivitenin pazı ekstresinin gösterdiğini belirtmiştir [103].

Bu çalışmada ise, CUPRAC indirgeme gücü aktivitesi incelendiğinde, metanol-su ekstrelerde pazı pancarı (0,878±0,023), mendek (0,823±0,0941) ve pancar (0,754±0,022) ekstrelerinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu saptandı. Konsantrasyon arttıkça indirgeme gücü de artmaktadır. Aynı konsantrasyonlarda standart antioksidan BHT (0,721±0,021) ile karşılaştırıldığında pazı pancarı ekstresinin daha yüksek aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

Dietil eterli ekstrelerde CUPRAC indirgeme gücü aktivitesi incelendiğinde ise en yüksek aktivite (absorbans) değerleri; melocan (0,722±0,049), pancar çiçeği (0,697±0,073) ve hoşuran ekstrelerinde (0,6895±0,094) saptandı. Konsantrasyon artışı ile indirgeme gücünün de arttığı saptandı. Pazı pancarı dietil eter ekstresinin absorbands değeri 0,643±0,045; metanol-su ekstresinin ise 0,878±0,023 olduğu belirlenmiştir.

Sağkal, Giresun yöresinde yetişen bitkiler üzerine yaptığı enzim inhibisyonu ile ilgili çalışmasında sulu, etil asetatlı ve metanollü bitki ekstrelerinin tümünde anti-üreez aktivitesi saptamıştır. Sağkal elde ettiği bulguların, halk arasında günlük tüketimde yenilebilen bitkilerin mide ve böbrek ile ilgili hastalıklarda, geleneksel kullanımı için bilimsel olarak destekler nitelikte olduğunu bildirmiştir. Çalışmasındaki diğer bitkiler

içerisinde yüksek üreaz inhibitör etkisi gösteren pazı, mendek, yayla pancarı, karalahana ve çalı çileği bitkilerinin sulu, etil asetatlı ve metanollü ekstrelerinin yüksek üreaz inhibitör etkisi göstermesinin, bu bitkilerin böbrek rahatsızlıklarında ve mide enfeksiyonlarının başlıca nedeni olan *Helicobacter Pylori*'yi inhibe etmesi için diüretik olarak değerlendirilebileceğini bildirmiştir. Karalahana bitkisinden hazırlanan metanollü ve etil asetatlı ekstrelerinin de yüksek oranda anti-üreaz aktiviteye sahip olduğunu saptamıştır ($IC_{50} = 0,0009 \pm 0,00002 - 0,0032 \pm 0,0038$) [104].

Bu çalışmada ise; bitkilerin metanol-su ve dietil eterli ekstrelerinin her ikisinde de iyi oranda anti-tirozinaz aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Dietil eterli bitki ekstrelerinin arasında en yüksek anti-tirozinaz aktiviteyi gücükdene ($IC_{50} = 0,013 \pm 0,0008 \mu M$) bitkisinin; en düşük anti-tirozinaz aktiviteyi ise mendek bitkisinin ($IC_{50} = 0,087 \pm 0,0081 \mu M$) gösterdiği gözlemlendi. Metanol-su bitki ekstrelerinin arasında en yüksek anti-tirozinaz aktiviteyi kaldirik ($IC_{50} = 0,017 \pm 0,002 \mu M$) bitkisi, en düşük aktiviteyi ise kuzukulağı bitkisinin ($IC_{50} = 0,071 \pm 0,003 \mu M$) gösterdiği gözlemlendi.

Calay, enzim inhibisyonu ile yaptığı çalışmasında sulu ve etil alkollü ekstrelerinde yüksek tirozinaz inhibisyon etkisi gösteren kiraz, greyfurt, karadut, sarımsak ve havuç gibi bitkilerin deri rahatsızlıklarında bitkisel ilaç olarak kullanımının uygun olacağını ileri sürmüştür [104].

Çalışmamızda enzim inhibisyonu bulgularımızda, metanol-sulu ve dietil eterli ekstrelerde yüksek tirozinaz inhibisyon etkisi gösteren gücükdene ve kaldirik gibi bitkilerde gözlemleyerek, Calay'ın varımına dayanarak deri rahatsızlıklarında bitkisel ilaç olarak kullanımının uygun olacağını söyleyebiliriz.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Giresun yöresinde yetişen bazı bitkilerin, bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (CUPRAC) ve anti-tirozinaz enzim inhibisyonlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Araştırma materyali 2017-2018 yılları arasında değişik vejetasyon dönemlerinde (çiçeklenme, meyvelenme ve tohumlanma vs.) toplanan bitkilerdir. Bitki örnekleri en az ikişer adet olmak üzere çiçek ve meyve gibi kısımlarının üzerinde bulunmasına dikkat edilerek toplanmıştır. Toplanan bitkiler modern sistematik kurallara uygun olarak [105] herbaryum materyali haline getirilmiştir ve Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu (GRUH)'na yerleştirilmiştir.

Bitkilerin teşhisleri, Davis'in (1965-1985) [106] editörlüğünde yayınlanmış olan "Flora of Turkey and the East Aegean Islands 1-9", "Flora of Turkey and the East Aegean Islands (suppl. 1), Vol 10" ve "Flora of Turkey and the East Aegean Islands (suppl. 2) Vol 11" flora kitapları başta olmak üzere, "İngilizce – Türkçe Botanik Klavuzu" [107] adlı sözlük kullanılmıştır. Ayrıca teşhis edilen bitkilerin kontrolünde Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu (GRUH)'ndan yararlanılmıştır. Flora listesinde taksonlar, Türkiye Florası [106] Davis'in (1965-1985)'deki filogenetik sıraya uygun biçimde sıralanmıştır. Otör isimleri Türkiye Florası'ndaki şekliyle verilmiştir. Örneklerin ailya adları koyu, tür adları italik ve koyu yazılmıştır.

Toplanan materyaller, demirbaş tespiti yapmak üzere 1001'den başlayarak numaralandırılmıştır. Bitkilerin hangi bitki coğrafyası bölgesine ait olduğunun ve endemik olup olmadığının tespiti için "Flora of Turkey and the East Aegean Islands 1-9 7 [106], "Flora of Turkey and the East Aegean Islands (suppl. 1), Vol 10 [108]" ve "Flora of Turkey and the East Aegean Islands (suppl. 2) Vol 11 (Güner vd. 2000)", "Flora Orientalis" (Boisser 1867-1884) ve Index Kewensis (1895) kullanılmıştır.

Karalahana (*Brassica oleracea*) bitkisi Haziran 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 62 (GRUH).

Pancar Çiçeği (*Beta vulgaris*) bitkisi Ekim 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 105 (GRUH).

Sakarca (*Ornithogalum umbellatum*) bitkisi Mayıs 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 51 (GRUH).

Melocan (*Smilax excelsa* L.) bitkisi Mayıs 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen (GRUH).

Kaldirik (*Trachystemon orientalis* L.) G. DON bitkisi Nisan 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 45 (GRUH).

Kuzukulağı (*Rumex acetosella* L.) bitkisi Temmuz 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 74 (GRUH).

Çalı Çileği (*Vaccinium myrtillus* L.) bitkisi Temmuz 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 81 (GRUH).

Hoşuran (*Amaranthus retroflexus* L.) bitkisi Temmuz 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 92 (GRUH).

Isırgan (*Urtica dioica* L.) bitkisi Ağustos 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 97 (GRUH).

Ezeltere (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi Ağustos 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 98 (GRUH).

Mendek (*Aegopodium podagraria* L.) bitkisi Mayıs 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 55 (GRUH).

Pazı Pancarı (*Aegopodium podagraria* L.) bitkisi Mayıs 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 55 (GRUH).

Gücükdene (*Polygonum bistorta* L.) bitkisi Temmuz 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 85 (GRUH).

Pancar (*Capsella bursa-pastoris* L.) MEDİK. bitkisi Kasım 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 107 (GRUH).

Ayı Kulağı (*Arum maculatum* L.) Nisan bitkisi Mayıs 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen (GRUH).

Kabalak (*Tussilago farfara* L.) Mart bitkisi Nisan 2017'de toplanmıştır. Herbaryum numarası, Turkmen 44 (GRUH).

3.1. Materyal

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Nüve-NS-108
Etüv	: Binder
pH Metre	: Butech
UV-VIS Spektrofotometre	: T80+PG Instruments
Terazi	: Shimadzu AUx220
Vorteks	: Velp Scientifica
Hassas Terazi	: Sartorius
Su Banyosu	: Memmert
Otomatik Pipetler	: Brand Pipetleri

3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tüm deneylerde, MERCK veya SIGMA ürünler kullanıldı.

3.1.3. Deneylerde Kullanılan Bitkiler

Antioksidan aktivitesi tayinininde sırasıyla karalahana, pancar çiçeği, sakarca bitkisi, melocan, kaldırık, kuzukulağı, çalı çileği, hoşuran, ısırgan, ezeltire (anason), pazı pancarı, mendek, gücükdene, pancar, ayıkulağı ve kabalak bitkileri kullanıldı. Giresun yöresindeki bazı köylerden toplanan veya pazarlardan temin edilen bitki materyalleri yıkandı, destile sudan geçirildi ve serin bir yerde kurutuldu.

3.1.3.1 Karalahana

Yöresel Adı: Pancar

Bilimsel Adı: *Brassica oleracea*



Resim 2.1 Karalahana Bitkisi [145].

Karalahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), sarı veya beyaz çiçekli, iki yıllık ve çok uzun yıllık, genel olarak Akdeniz çevresi ülkelerinde yetiştirilmekte olan soğuk mevsimlerin sebzesidir. Killi, derin, serin ve kuvvetli topraklarda yetişebilirler. Azotlu gübrelere çok ihtiyaç duyarlar. Kolay göbek bağlaması, kışa dayanıklı olabilmesi ve kendine has lezzeti olması için çok miktarda potasyuma ihtiyaç duyar [109]. Lahana türleri zayıflamak isteyen kişiler için birebirdir çünkü kalori değeri çok düşük miktardadır. Çeşitli türleri bulunan lahana sebzesi, besinsel değeri yüksek olan kalsiyum, magnezyum, fosfor, potasyum ve demir gibi elementleri yapısında bulundurduğu için çokça tüketilmektedir [110,111].

Faydaları: Lahananın romatizma ve şeker rahatsızlığı olanlar için çok yararlı olduğu bilinmektedir. Yapısında bulundurduğu kükürt ve vitaminler ile kanı derinlemesine temizleyip cildi güzelleştirdiği, çok miktarda idrar söktürdüğü, tohumlarının kurt düşürücü olduğu ve vücuttaki suyu ve zehirli toksinleri idrarla dışarı attığı bildirilmiştir. Yalnızca lahana çeşitlerinde bulunan ve U vitamini olarak tanımlanan vitamin, mide ve bağırsakların iç yüzeyini korur ve midede oluşan yaraların iyileşmesinde ve düzelmesinde büyük rol oynar [109].

3.1.3.2. Pancar Çiçeği

Bilimsel Adı: *Beta vulgaris*, *Beet*, *Betterave*



Resim 2.2 Pancar Çiçeği Bitkisi [145].

Ispanakgiller familyasından, iki yıllık otsu bir bitkidir. İlk yıl yalnızca rozet yaprakları vardır ve henüz çiçek açması için çok erkendir. İkinci yıl boyu 20-50 cm'yi bulan fazlaca uzun boylu bir bitki olur. Tepedeki çiçekleri salkım biçiminde toplanca hepsi birlikte ve renkleri yeşildir. Köklerinin ufak bir kısmı dışarıdan görünür. Dışı sarımsı beyaz, içi beyaz renkte, silindir şeklinde başlar ve koni şeklini alır [145].

3.1.3.3. Sakarca

Yöresel Adı: Çökölce

Bilimsel Adı: *Ornithogalum umbellatum*



Resim 2.3 Sakarca Bitkisi [145].

Ornithogalum türleri, genellikle çıplak, skapuslu ve soğanlı çok yıllanmış otsu bitkilerdir. Tıbbi ve maddi değerleri vardır [108]. Bu familya yumrularının ve başka parçalarının gastrointestinal sistemi ve kalbin ritmini ciddi ve olumsuz şekilde etkileyen bazı bileşikler (konvallotoksin ve diğer glikozitler) ve sponinler içerdiği bilinmektedir. Tür hem insanlarda hem de hayvanlarda zehirlenmelere ve rahatsızlıklara sebep olmaktadır. Eski zamanlardan bu zamana kadar yumruları kusturucu ve çıban açıcı olarak kullanılmıştır. Pişmiş veya taze yumru çıbanın çıktığı yere sarılır ve çıbanın büyüyüp erişip açılmasını sağlar [113,114].

3.1.3.4. Melocan

Yöresel Adları: Merevcen, Diken Ucu, Özdiken, Silcan, Melvocan

Bilimsel Adı: *Smilax excelsa*



Resim 2.4 Diken Ucu Bitkisi [145].

Diken ucundan meydana gelen bir bitki olan melocan doğal ortamlarda yetişmektedir. Yaprakları uç sürgünü yenir. Meyvelerinde şeker, tanen, nişasta, saponin ve reçine bulunmaktadır. 1-2 metreye kadar büyüeyebilen kökleri bulunmaktadır. Merücen bitkisinin kök kısmı kaynatılıp balla tatlandırılıp içilmesi alışkanlık edilirse terletici, idrar söktürücü, kan temizleyici ve idrar söktürücü özelliği vardır ve kaynatılıp içildiğinde frengi ve sedef hastalığına şifa

olduğu bilinmektedir (Kaledibi Köyü). Merücenin körpe dikensiz filizleri haşlanıp kavurularak ve konserve yapıp kış aylarında kavurması yapılarak yenilmektedir [115].

Faydaları: Halk hekimliğinde, göğüs kanseri, mide ağrısını iyileştirmede [116] hazmı ve sindirimi kolaylaştırmada kullanılmaktadır [117].

3.1.3.5. Kaldirik

Yöresel Adları: Hodan, Ispıt

Bilimsel Adı: *Trachystemon orientalis*



Resim 2.5 Kaldirik Bitkisi [145].

30-40 cm yükseklikte, çok yıllık otsu bir bitkidir. Yaprakları sert tüylü ve çiçeklerinin rengi mavidir. Kuzey Anadolu Bölgesinde kayın ormanları altında fazlaca yetişmektedir. Tanen, uçucu yağ, nitrat tuzları, müsilaj, saponin ve reçine taşımaktadır [118].

Faydaları: Halk arasında idrar arttırıcı, kan temizleyici, yumuşatıcı ve ateş düşürücü [118,117] özellikleri bilinmekte olup göğüs kanserinde, mide ağrısı ve gaz gidermede [116] kullanılmaktadır.

3.1.3.6. Kuzukulağı

Yöresel Adları: Labada, Ekşimik, Turşuotu

Bilimsel Adı: *Rumex acetosella*



Resim 2.6 Kuzukulağı Bitkisi [120].

Polygonaceae ailesinden, kırmızı dik ve tüysüz gövdeli 15-40 cm boyunda çok yıllık bir bitkidir. Nemli kırlarda doğal olarak yetişir. Ok biçiminde tüysüz yaprakları ve pembemsi renkli çiçekleri vardır [121]. Fazla sayıda oksalik asit içeren ekşi yaprakları salata olarak yenir.

Faydaları: Halk arasında yapraklarından hazırlanan lapalar çıban iyileştirmesinde kullanılır. Köklerinden yapılan ilaçlar kuvvet verici, iştah açıcı ve müshil olarak da kullanılır [122].

3.1.3.7. Çalı Çileği

Yöresel Adı: Çileklik

Bilimsel Adı: *Vaccinium myrtillus*



Resim 2.7 Çalı Çileği Bitkisi [123]

Vaccinium myrtillus, Karadeniz Bölgesi'nin doğu kesimi başlıca olmak üzere yöresel olarak çok değişik isimlerle bilinen üzüksü bir meyvedir. Organik madde ve asitlerce bol bulunan toprakları bulunan ılıman iklimlerde yetişebilen üzüksü bir meyvedir. Türkiye'de 40-42 °C Kuzey enlemleri arasında kalan büyük bir kısmını Karadeniz Bölgesi'nin oluşturduğu alandaki tercihen yüksek rakımlı, organik maddece zengin ve asitli topraklarda çok daha kolay şekilde yetişebilmektedir [124-129].

Faydaları: İdrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Vücudu kanserden koruyan enzimleri çalıştırdığı, damarlarda yağ birikiminin önüne geçme özelliğine sahip olduğu, yağlı bileşiklerin vücuttan dışarı atılmasını kolaylaştırdığı bilinmektedir. Kan şekerini ve kolesterolü en aza indirme eğilimi gösterdiği, bağırsak metabolizmasını düzene soktuğu, damar sertliği oluşumunun önüne geçtiği saptanmıştır [125]. Çalı çileği içeriği antioksidan bakımından en zengin olan meyvelerden biridir. Özel olarak beyin fonksiyonları üzerine önemli derecede olumsuz etkiye sahip olan Alzheimer hastalığının önüne geçilmesi üzerine önemli bir etkisi olduğu tanısına varılmıştır [126].

3.1.3.8. Hoşuran

Yöresel Adları: Koşkiran, Horoz İbiği

Bilimsel Adı: *Amaranthus retroflexus*



Resim 2.8 Hoşuran Bitkisi [145].

Yaprakları sebze gibi yenebilen, kendi kendine humuslu topraklarda yetişip olgunlaşan bir yıllık bitkidir. Hoşuran özel olarak ekilip yetiştirilen bir bitki olmamakla beraber önceki yılların gabalarından dökülen tohumlardan çıkar ve yetişir. Çıktığı arazi sürülüp işlenen verimli bir araziye, güzel yetişirler ve tazecik

olurlar. Bu bitkinin romatizmaya karşı etkili olduğu bilinmektedir [130].

3.1.3.9. Isırgan

Bilimsel Adı: *Urtica dioica / urens*



Resim 2.9 Isırgan Bitkisi [145].

Çok yıllık otsu bir bitkidir. Sapı dört köşeli, dik, 150 cm kadar uzayan, sürüngen ve çok dallıdır. Yapraklar karşılıklı, eşkenar, yürek-mızrak şeklinde dişlidir. Sap ve yaprakları yakıcı tüylerle kaplıdır. Çiçekler ufak, yeşil, tek cinsiyetli, uç yaprak koltuklarında püskül gibi toplu halde [132].

Faydaları: Son zamanlarda çok yaygın olan kanser hastalığını önleyici etkileri olduğu saptanmıştır [133]. Tohum ve yaprakları egzama, apse, yara, basur, karaciğer yetmezliği, iç hastalıkları, diyabet, deri enfeksiyonları, romatizmal ağrılar, kanser ve burun kanamaları gibi birden çok rahatsızlığın tedavi edilmesinde tercih edilmektedir. Ayrıca, prostat, mide-bağırsak tümörleri, özefagus kanseri iyileştirmesinde de kullanılmaktadır [134].

3.1.3.10. Ezeltire

Yöresel Adları: Anason, Enison, Mesirotu

Bilimsel Adı: *Pimpinella anisum*



Resim 2.10 Ezeltire (Anason) Bitkisi [135].

Yurdumuzda yaygın olarak büyüyen ve kullanılmakta bir bitki olan anason (*P. anisum*); Anadolu'da yaygın olarak yetişen *Apiaceae* familyasından aromatik bir bitki olup; çok eskilerden bu zamana kadar çiçek, yaprak ve tohumlarından sedatif, antispazmodik, antiseptik, antifungal, tonik, antidepresan olarak kullanılmaktadır. Hepatoprotektif etkileri olduğu da düşünülmektedir [132].

3.1.3.11. Pazı Pancarı

Yöresel Adı: Pezik

Bilimsel Adı: *Beta vulgaris* L. var. *cicla*



Resim 2.11 Pazı Pancarı [141].

Pazı çok fazla besleyici bir sebze çeşididir. Yapısında aşırı miktarda sodyum bulunur. Kalorisi düşük olan pazı bitkisi mineraller yönünden oldukça yoksun bir bitki olmasına rağmen askorbik asit (C vitamini) yapısı bakımından oldukça zengindir [133,134]. Yüksek miktarda sodyum bulunduran pazı yaprakları bununla doğru orantılı olarak A vitamini de bulundurmaktadır. Sodyumun yanı sıra pazı yapısında kalsiyum, fosfor, magnezyum, demir ve potasyum da bulunmaktadır. Ayrıca pazı içerisinde palmitik, sitrik, oleik (Omega-9), linoleik asit (Omega-6) gibi uçucu yağ asitleri, folik asit, pektin, askorbik asit, fosfolipit, glikolipit ve polisakkaridler de bulunmaktadır [135].

3.1.3.12. Mendek

Yöresel Adı: Baldıran

Bilimsel Adı: *Aegopodium podagraria*



Resim 2.12 Mendek Bitkisi [145].

Çok yıllık bir bitki olan mendek içi boş, dik bir gövdeye sahiptir. Taç yaprakları beyaz ya da bazen pembemsidir. Taneleri enlemesine silindiriktir. Yan ve arka çizgileri ipliksi; yanları çıkıntılıdır [121,140].

3.1.3.13. Gücükdene

Yöresel Adları: Kurtpençesi, Çıyancık, Kurtturnağı

Bilimsel Adı: *Polygonum bistorta*



Resim 2.13 Gücükdene Bitkisi [141].

Polygonaceae familyasına ait cinsi olup ülkemizde tıbbi amaçla tercih edilen ve doğal olarak yayılım gösteren 33 cinsi bulunmaktadır [142]. *Polygonum* türünün bazı cinsleri geleneksel sağaltımda kullanılmakla beraber *P. bistorta*'nın kurutulmuş kök ve rizomlarının antitüsitif ve antimikrobiyal yönleri olduğu saptanmıştır [143]. British Herbal Farmakopede dergisinde ise antidiyaretik ve antienflamatuar etkilere sahip olduğu bildirilmiştir [144].

3.1.3.14. Pancar

Yöresel Adları: Kuş Pancarı, Çobançantası, Kuş Ayağı Pancarı

Bilimsel Adı: *Capsella bursa-pastoris* L.



Resim 2.14 Pancar Bitkisi [146].

Boyu 55 cm kadar uzayabilen, tek yıllık bir bitkidir. Sapı düzgün, yukarı kısmından dallanmış olup yaprakları saplıdır. Tohumları elips şeklinde olup rengi sarı-kahverengidir [132]. Halk hekimliğinde kurt düşürücü, kan temizleyici, bağırsak yumuşatıcı, yaraların iyileşmesini ve onarılmasını hızlandırıcı, egzama ve göz iltihabını iyileştirici [147]; kabızlık önleyici ve idrar söktürücü [147] olarak ve diyabette [149] kullanılmaktadır.

3.1.3.15. Ayı Kulağı

Yöresel Adı: Nivik

Türkiye Geneli Adı: Tirşik pancarı, Yılan Dili, Yılan Otu, Ayı Kulağı, Yılan Bıçağı, Yılan Yastığı, Kabargan

Bilimsel Adı: *Arum maculatum*



Resim 2.15 Ayı Kulağı [145].

Nivik, özel olarak ekilip yetiştirilen bir bitki olmamasının yanısıra önceki yılın çiçeklerinden düşen tohumlardan elde edilir. Çıktığı arazi sürülüp işlenen verimli bir araziye, daha güzel yetişirler, daha verimli ve taze olurlar.

Karadeniz bölgesinde yaygın olarak ekilip biçilen kırlarda ve tarlalarda kendi kendine doğal olarak büyürler. Bu niviklerin 2 türü bulunmaktadır. İlki bitkinin yaprakları en ve boy olarak biraz daha ufak tüketilen türü, ikincisi ise tüketilmeyen yaprakları en ve boy olarak büyük olan zehirli öldürücü ve zehirleyici bir türdür. Nivik belirli zamanlarda yapraklarının taze olduğu zamanlarda toplanmaktadır.

Kaynama esnasında çıkan yeşil köpükler alınır. Yeşil köpükler otun zehrinin etkisini göstermektedir. Tüketilirken çok fazla çiğnememeye dikkat edilir çünkü bitkinin zehri boğaza gıdıklama gibi bir hissiyat bırakır ve damaklardada hissedilir. Kahramanmaraş civarında bu bitkinin çorbası yapılmaktadır ve ismi de Tirşik Çorbasıdır.

Yöre Yemekleri: Kavurması yapılır (Genel olarak içine mısır ekmeği doğranarak yoğurt ilavesi ile yenilmektedir) [149].

3.1.3.16. Kabalak Otu

Yöresel Adları: Öksürük Otu, Devetabanı, Kusut, Sulandık otu

Bilimsel Adı: *Tussilago farfara*



Resim 2.16 Kabalak Otu [141].

Çok yıllık, rizomlu, 40 cm'ye kadar uzayabilen otsu bir bitki türüdür. Rutubetli ve nemli yerlerde, ormanlık alanlarda, dere kenarlarında yaygın olarak yetişir. Karların erimesiyle beraber bitkinin önce bal kokusunda sarı çiçekleri bulunmaktadır. Çiçeklerin solması sonrasında iri yeşil yapraklar açar. Bu yapraklar zaman zaman şemsiye olarak kullanılabilecek kadar büyüyüp yetişirler.

Yapraklarının alt yüzü beyaz, üst yüzü yeşil ve tüylüdür. Yöresel olarak öksürük

tedavilerinde tercih edildiği bilinmektedir [146].

3.2. Yöntem

Çalışmada kullanılacak olan bitkiler, mevsime bağlı olarak Giresun İlinin köylerinden toplanacak veya semt pazarlarından temin edilecektir. Toplanan bitki numuneleri saf su ile yıkandıktan sonra laboratuvar şartlarında kurutularak öğütülerek toz haline getirilecektir. Her bitki numunesinden belirli gramajlarda alınarak farklı çözücülerle ekstraksiyonları yapılacaktır. Ekstraksiyon sonrasında örnekler Whatman kâğıdıyla süzülecektir. Elde edilen süzüntülerin rotary evaporatörde çözücüleri uçurularak bitki ekstraktları elde edilecektir. Elde edilen ekstraktlar antioksidan ve inhibisyon aktivitesi inceleninceye kadar +4 °C’de saklanacaktır. Çalışmalar için her bir ekstrenin stok ve standart çözeltileri dimetilsülfoksitte (DMSO) hazırlanacaktır. Hazırlanan bu çözeltiler, aynı çözücü ile farklı konsantrasyonlara seyreltilerek aktiviteleri incelenecektir. . CUPRAC yöntemi, Özyürek ve arkadaşları [148]; anti-tirozinaz aktivitesi ise Vanni ve arkadaşlarının [147] yöntemlerine göre spektrofotometrik olarak tayin edilecektir.

3.2.1.1. Metanol-Su Ekstrelerinin Hazırlanması

Her bitkiden 20’şer gram alınarak 100 mL metanol, 100 mL su ilave edilerek çalkalamalı su banyosuna konuldu. 24 saat bekletildikten sonra bez yardımıyla süzülerek çözücünün uzaklaşması için bir süre bekletildi. 40 °C’de etüve kuruması için bırakıldı.

3.2.1.2. Dietil Eter Ekstrelerinin Hazırlanması

Her bitkiden 20’şer gram alınarak bitkiye 200 mL dietil eter ilave edilerek çalkalamalı su banyosuna konuldu. 24 saat bekletildikten sonra bez yardımıyla süzülerek çözücünün uzaklaşması için bir süre bekletildi. 40 °C’de etüve kuruması için bırakıldı.

Hem antioksidan hem de enzim inhibisyon aktivitesi tayininde bitkilerin farklı

çözücülerdeki ekstralarının farklı konsantrasyondaki çözeltileri hazırlandı. Bunun için öncelikle stok çözeltileri hazırlandı. Hem metanol-su, hem dietil eter bitki ekstralarından stok çözelti (1000 µg/mL) hazırlamak için 0,0020'şer gram alınıp 2 mL dimetilsülfoksit (DMSO)'te çözülerek hazırlandı. Daha sonra aynı çözücüyle farklı konsantrasyonlara seyreltildi.

3.2.1. Anti-tirozinaz Aktivite Tayini

Hazırlanan farklı konsantrasyondaki çözeltilerden Vanni ve ark.'nın tirozinaz inhibitör aktivitesi yöntemine göre spektrofotometrik olarak tayin edildi [147]. Tüm bitki ekstraları ve standart madde (kojik asit), DMSO ile 0,00001-0,01 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışıldı. 40 U tirozinaz içeren çözeltilerden 10 µL alındı, üzerine 20 µL 1,5 mM L-tirozin substratı ile 10 µL bitki ekstresi eklendi. Standart inhibitör olarak kojik asit kullanıldı. Kontrol olarak bitki ekstresi yerine destile su eklendi. Daha sonra 110 µL 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 6,5) ilave edildi ve 10 dakika 37 °C'de inkübasyon yapıldı. 490 nm de köre karşı absorbans değerleri okundu.

Deneyler 3 kez tekrarlanarak ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. Bitki ekstralarının tirozinaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{490 \text{ kontrol}} - A_{490 \text{ örnek}}) / A_{490 \text{ kontrol}}] \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrol çözeltisinin 490 nm'de suya karşı absorbans değeri.

$A_{\text{örnek}}$: Örnek çözeltisinin 490 nm'de suya karşı absorbans değeri.

Tirozinaz enziminin IC₅₀ değeri (Enzimin % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli olan madde miktarı) absise konsantrasyon, ordinata % inhibisyon değerleri uygulanarak çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

3.2.2. CUPRAC İndirgeme Gücü Yöntemi İle Antioksidan Kapasite Tayini

Bakır (II) indirgeme kapasitesine dayanarak, toplam antioksidan miktarını ölçümüne dayalı bir yöntemdir. Kromojenik bir redoks reaktifi olan bis(neokuproin)-bakır(II) klorür kullanılarak, hem hidrofilik hem de lipofilik toplam antioksidan miktarı kolaylıkla tayin edilebilir. Hazırlanan çözeltiye, antioksidan içeriği belirlenecek numune alınıp çözeltiye ilave edilir. Oluşan sarı renkli çözelti, spektrofotometre cihazına konulur ve sarı rengin şiddetine göre besinlerdeki antioksidan miktarı belirlenmiş olur. Bu yöntemle, kısa sürede doğru sonuçlar almanın yanısıra analiz sırasında laboratuvar ortam şartları (nemi ışık, ısı) etkisi olmadan ölçümlerin gerçekleştirilebilmesi diğer yöntemlere göre avantajlıdır [148].

Bitki örneklerinin CUPRAC aktivite tayini Özyürek ve arkadaşlarının geliştirdiği metoda göre yapıldı. Bitki ekstraktları ve BHT (standart antioksidan), DMSO kullanılarak 25-100 µg/mL aralığına seyreltildi. 250'şer µL Cu (II) klorür, susuz alkolde hazırlanmış neokuproin ve sulu amonyum asetat tamponu (pH: 7,0) deney tüpüne alınıp vortekste karıştırıldıktan sonra üzerine tayin edilecek bitki ekstresi veya BHT çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletilip, içerisinde antioksidan bulunmayan kör deneye karşı 450 nm'de absorbansları okundu. Sonuç, absorbans - konsantrasyon tablosu olarak yorumlandı [148].

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada Giresun yöresinde yetişen bitkilerin bakır indirgeme gücü (CUPRAC) ve anti-tirozinaz enzim aktiviteleri incelendi.

4.1. Anti-Tirozinaz Aktivite Tayini Sonuçları

Dietil eterli bitki ekstralarının arasında en düşük anti-tirozinaz aktiviteyi gücükdene ($IC_{50} = 0,013 \pm 0,0008 \mu\text{g/mL}$) bitkisi, diğer bitkilere göre daha yüksek anti-tirozinaz aktiviteyi ise mendek bitkisinin ($IC_{50} = 0,087 \pm 0,0081 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği gözlemlendi. Standart tirozinaz inhibitörü olan kojik asit ($IC_{50} = 0,097 \pm 0,00371 \mu\text{g/mL}$) ile kıyaslandığında, bulmuş olduğumuz değerlerimizin daha güzel sonuçlar verdiğine rastladık.

Metanol-su bitki ekstralarının arasında en düşük anti-tirozinaz aktiviteyi kaldırık ($IC_{50} = 0,017 \pm 0,002 \mu\text{g/mL}$) bitkisi, diğer bitkilere göre daha yüksek anti-tirozinaz aktiviteyi ise kuzukulağı bitkisinin ($IC_{50} = 0,071 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği gözlemlendi.

Tablo 4.1. Bitkilerin dietil eterli ve metanol-su ekstralarının anti-tirozinaz aktivite değerleri.

Bitki Adı	Anti-tirozinaz Aktivite $IC_{50} (\mu\text{g/mL})^*$	
	Dietil eter	Metanol-Su
Karalahana	$0,053 \pm 0,0021$	$0,023 \pm 0,003$
Pancar çiçeği	$0,06 \pm 0,002$	$0,032 \pm 0,002$
Sakarca	$0,065 \pm 0,0011$	$0,05 \pm 0,002$
Melocan	$0,034 \pm 0,0047$	$0,027 \pm 0,002$

Kaldirik	0,041±0,0023	0,071±0,003
Kuzu kulağı	0,041±0,0016	0,017±0,002
Çalı çileği	0,068±0,0040	0,03±0,002
Hoşuran	0,048±0,0033	0,031±0,002
Isırgan	0,040±0,0022	0,079±0,094
Ezeltere	0,034±0,0047	0,031±0,003
Pazı pancarı	0,054±0,0023	0,030±0,002
Mendek	0,013±0,0008	0,032±0,002
Güçükdene	0,087±0,0081	0,034±0,003
Pancar	0,053±0,0021	0,023±0,003
Ayıkulağı	0,028±0,0010	0,066±0,003
Kabalak	0,081±0,0074	0,021±0,003

*Ortalama ± Standart sapma

4.2. CUPRAC İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları

Bitki ekstralarının bakır indirgeme gücü, konsantrasyona karşı absorbands tablosu olarak değerlendirildi ve BHT ile aktiviteleri karşılaştırıldı. Bu değerler Tablo 4.2’de verildi.

CUPRAC indirgeme gücü aktiviteleri (absorbans değeri), metanol-su ekstralarında; pazı pancarı (0,878±0,023), mendek (0,823±0,0941) ve pancar (0,754±0,022) bitkilerinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu rastlandı. Konsantrasyon arttıkça indirgeme gücü de artmaktadır. Bizim çalışmamızda BHT’ den pazı pancarı bitkisinin aktivitelerinin daha güzel sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

CUPRAC indirgeme gücü aktivitesi, dietil eterli ekstrelerde; melocan ($0,722\pm0,049$) ve pancar çiçeği ($0,697\pm0,073$) ve hoşuranda ($0,6895\pm0,094$) absorbans değerlerinin en yüksek olduğu görüldü. Konsantrasyon arttıkça indirgeme gücünde arttığı gözlenmiştir.

Pazı pancarı bitkisi apolar çözücü olan dietil eterli ekstrede $0,643\pm0,045$ absorbanslarını verirken, polar çözücü olan metanol-suda $0,878\pm0,023$ absorbans değerlerini göstermiştir.

Tablo 4.2. Bitki Ekstrelerinin CUPRAC İndirgeme Gücü Antioksidan Aktiviteleri

Bitki Adı	İndirgeme Gücü Absorbans Değeri*	
	Dietil eter	Metanol-su
Karalahana	$0,399\pm0,332$	$0,499\pm0,018$
	$0,438\pm0,013$	$0,575\pm0,017$
	$0,510\pm0,051$	$0,671\pm0,018$
	$0,672\pm0,086$	$0,754\pm0,022$
Pancar Çiçeği	$0,410\pm0,012$	$0,425\pm0,018$
	$0,453\pm0,008$	$0,47\pm0,016$
	$0,535\pm0,069$	$0,604\pm0,012$
	$0,697\pm0,073$	$0,645\pm0,018$
Sakarca	$0,365\pm0,067$	$0,576\pm0,0026$
	$0,430\pm0,041$	$0,612\pm0,013$
	$0,503\pm0,013$	$0,679\pm0,015$
	$0,641\pm0,033$	$0,753\pm0,016$
Melocan	$0,397\pm0,069$	$0,429\pm0,024$
	$0,427\pm0,059$	$0,502\pm0,018$
	$0,592\pm0,0226$	$0,559\pm0,021$
	$0,722\pm0,049$	$0,638\pm0,023$
Kaldirik	$0,404\pm0,028$	$0,404\pm0,0276$
	$0,463\pm0,016$	$0,464\pm0,0177$
	$0,589\pm0,057$	$0,523\pm0,0354$
	$0,647\pm0,071$	$0,631\pm0,0488$
Kuzukulağı	$0,407\pm0,023$	$0,449\pm0,018$
	$0,476\pm0,030$	$0,5\pm0,026$
	$0,597\pm0,021$	$0,545\pm0,023$
	$0,64\pm0,010$	$0,62\pm0,026$
Çalı Çileği	$0,366\pm0,067$	$0,452\pm0,013$
	$0,426\pm0,035$	$0,499\pm0,018$
	$0,554\pm0,059$	$0,56\pm0,016$
	$0,650\pm0,0446$	$0,619\pm0,021$
Hoşuran	$0,386\pm0,053$	$0,436\pm0,021$
	$0,427\pm0,059$	$0,527\pm 0,018$
	$0,590\pm0,020$	$0,586\pm0,026$
	$0,6895\pm0,094$	$0,644\pm0,033$

Isırgan	0,403 ± 0,026	0,412±0,013
	0,448±0,004	0,455±0,014
	0,520±0,040	0,516±0,035
	0,684±0,124	0,59±0,02
Ezeltere	0,406±0,021	0,402±0,0149
	0,457±0,004	0,467±0,0177
	0,5625±0,028	0,565±0,0248
	0,634±0,028	0,656±0,0269
Pazı Pancarı	0,402 ± 0,036	0,557±0,021
	0,450±0,030	0,648±0,023
	0,583±0,052	0,78±0,022
	0,643±0,045	0,878±0,023
Mendek	0,353±0,007	0,415±0,0120
	0,399±0,019	0,471±0,0318
	0,502±0,030	0,559±0,0354
	0,639±0,033	0,823±0,0941
Gücükdene	0,411±0,0283	0,436±0,021
	0,461±0,0099	0,5±0,026
	0,593±0,0156	0,545±0,023
	0,619±0,0064	0,62±0,026
Pancar	0,396±0,027	0,499± 0,018
	0,428±0,030	0,575±0,017
	0,502±0,025	0,671±0,018
	0,616±0,028	0,754±0,022
Ayıkulağı	0,422±0,0229	0,39±0,0156
	0,455±0,011	0,433±0,0198
	0,609±0,035	0,473±0,0318
	0,670±0,035	0,695±0,0149
Kabalak Otu	0,417±0,056	0,434±0,013
	0,455±0,069	0,499±0,02
	0,562±0,061	0,561±0,025
	0,611±0,021	0,593±0,012
BHT	0,494±0,026	
	0,546±0,037	
	0,577±0,021	
	0,721±0,088	

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanlar çok eski dönemlerden beri bitkileri gıda olarak, boya elde etmek, süs bitkisi ve tedavi amacıyla kullanmışlardır. Bu bitkilerin halk hekimliğindeki kullanımı antik çağdan itibaren devamlı bir artış göstermektedir [116]. Özellikle son yıllarda, çoğu insan sentetik ilaçların yan etkilerinden dolayı bitkisel tedaviye yönelmiştir. Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır [152].

Son zamanlarda, yenilebilir bitkilerden izole edilen fitokimyasalların yeni biyolojik özellikleri üzerine odaklanılmıştır. Çünkü yüzlerce yerli bitki türü, küresel olarak günlük diyetinde sebze, meyve, baharat ve çay olarak kullanılmaktadır. Birçoğu da geleneksel ilaçlar içinde yer almaktadır. Yenilebilir bitkiler, çeşitli biyolojik aktivite gösteren flavonoidler, vitaminler, terpenoidler, alkaloidler, organosülfürler, pigmentler ve diğer fenolik bileşikler gibi fitokimyasallar açısından zengindirler [154]. Bununla birlikte bitkiler yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşikler içermektedirler [155]. Antimutajenik, antikarsinogenik, antiaging gibi birçok biyolojik fonksiyon, bu antioksidanlardan kaynaklanmaktadır [156]. Terpenoidler, flavonoidler ve fenolik bileşenlerin ise anti-tirozinaz aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [157].

Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen bitkisel ilaç hammaddeleri üzerinde yapılan çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Bunların başlıca nedenleri, tedavide kullanılan sentetik ilaç hammaddelerinin bazılarında tehlikeli yan etkilerin görülmesi, bazı doğal ilaç hammaddelerinin sentetik olarak yapılamaması ve bitkisel hammaddelerin yarı sentez ürünlerde başlangıç maddesi kaynağı olması ile son zamanlarda önemli yeni bazı bitkisel ilaç hammaddelerin bulunması şeklinde sıralanabilir. Bitkisel ilaç hammaddelerin diğer bir üstün yanı da birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Sentetik bileşikler ise genellikle tek bir etkiye sahiptir [159].

Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini yok edici etkiye sahiptir ve vücutta ROT'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek üzere enzimatik veya enzimatik olmayan birçok endojen antioksidan savunma mekanizması bulunmaktadır. Bunun yanı sıra bazı ilaçlar, vitaminler ve sentetik gıda antioksidanları da ekzojen antioksidanlar olarak değerlendirilebilir [152]. Antioksidanlar serbest radikalleri bertaraf ederek dejeneratif hastalıkların oluşumunu önleyerek [1,2] yaşam kalitesinin artırılmasına faydalı olmaktadır [153]. Besin faktörlerinde bulunan antioksidanlar insan sağlığına faydalı oldukları gibi gıda maddelerinin de raf ömrünü uzatarak ve oksidasyonunu geciktirerek besin değerlerindeki kaybı azaltmaktadır. Ayrıca yaşlanmaya karşı mücadele edilmesinde ve bağışıklık sistemini de olumlu etkilemesi yönüyle antioksidanlar önemli maddelerdir. Bundan dolayı, antioksidanlar vücutta üretildikleri gibi dışarıdan gıda yoluyla da alınabilmektedir. Antioksidan etkisi fazla olan bileşikler; C ve E vitaminleri, tanenler, flavonoidler, katalaz, peroksidaz gibi enzimlerdir. Sentetik antioksidanlar ise BHA, BHT, gibi maddelerdir. Son yıllarda, sentetik antioksidanların vücut için toksik etkilerinin bulunduğu bildirilmesiyle doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır [1,2].

Enzimler, biyolojik sistemlerdeki tepkimelerin katalizörleridir. Kimyasal tepkimelerdeki aktivasyon enerjisini önemli ölçüde düşüren, tepkimeyi hızlandıran, tepkimeden bozulmadan çıkan ve defalarca da kullanılabilen, protein yapısında, biyokimyasal olayların canlı hücrede yaşam ile uyumlu bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan kimyasal ajanlardır [3]. Bunlar reaksiyon sırasında fiziksel değişiklikler geçirirler de reaksiyon tamamlandığında, tekrar kendi orijinal hallerine geri dönerler [15]. Enzimler günümüzde, endüstride özellikle besin teknolojisinde, ayrıca tıpta tanı ve tedavide kullanılmaktadır [12]. Enzimlerin hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamda gerçekleşen reaksiyonlarının aktivitelerinin azaltılması ve hatta yok edilmesi olayına inhibisyon, bu olaya sebep olan bileşiklere de inhibitör denilmektedir. Enzimatik aktiviteyi kontrol eden bu küçük moleküller, biyolojik sistemler üzerinde büyük ölçüde kontrol sağladıkları için çok önemlidir. Birçok ilaç ve toksik maddeler de enzim inhibitörü gibi davranarak etki etmektedirler. Enzim inhibitörleri, istenmeyen enzim aktivitesinin önlenmesi veya kontrol altında tutulmasında aracı olarak kullanılmaktadırlar [6].

Tirozinaz, moleküler oksijeni kullanarak monofenollerin *o*-kinonlara oksidasyonunu katalizleyen, bakır içeren bir enzimdir. Bu enzim, melaninin biyosentezinde rolü olan anahtar bir enzimdir. Melanin derinin ve saçın rengini sağlayan faktörlerden biri olan polifenol yapıdaki bir biyopolimerdir ve tirozinaz, melanin sentezindeki iki tepkimeyi katalizler. Birçok dermatolojik bozukluk, melanin pigmentinin fazla salgılanmasından kaynaklanmaktadır. Melanin biyosentezinin engellenmesi ise özellikle tirozinaz inhibisyonu ile sağlanabilir [148].

Tirozinaz enzimi vücutta melanin sentezinin fazla salgılanmasından kaynaklanan ciltte oluşan lekeler gibi hiperpigmentasyon sorunlarında ve psoriasis, vitiligo gibi melanin sentezinin yeteri kadar bulunmamasından ötürü hiperpigmentasyon sorunlarında önemli rol oynayan bir enzimdir. Psoriasis, vitiligo gibi melanin sentezinin yeterli olmamasından kaynaklı olmaktadır. Bu enzimi inhibe eden ajanlar hiperpigmentasyon problemlerin tedavisinde kullanılabilir [154].

Araştırmamızda metanol sulu ve dietil eterli ekstrelerin, IC₅₀ değerlerine bakıldığında metanol sulu ekstrelerde IC₅₀ değerlerinin bazı bitkilerde daha düşük oranda çıktığı görülmüştür. Bunun nedeninin tirozinaz inhibitörü olan askorbik asit gibi suda çözünen maddelerin metanol sulu ekstrelerde daha yüksek oranda bulunmasından kaynaklanabileceğini söyleyenebilir. Askorbik asit içeriği fazla olan bitkilerde ürünler kesilip uzun süre bekletildiği zaman üründe kararmalar meydana gelmez. Kararmanın meydana gelmemesinin sebebi bitkilerin içinde yüksek konsantrasyonda askorbik asit bulundurmasıdır.

Ayrıca bitkilerde de bulunan askorbik asidin, tirozinaz inhibisyon etkisi ve antioksidan etkisi nedeni ile deri koruyucusu olarak kullanıldığı literatürde belirtilmektedir [160].

Bu bilgiler ışığında, Giresun yöresinde yetişen karalahana, pancar çiçeği, sakarca bitkisi, melocan bitkisi, kaldirik bitkisi, kuzukulağı bitkisi, çalı çileği bitkisi, hoşşuran bitkisi, ısırgan bitkisi, ezeltre (anason) bitkisi, pazı pancarı, mendek bitkisi, gücükdene bitkisi, pancar, ayıkulağı ve kabalak gibi bazı yöresel bitkilerin bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (CUPRAC) ve tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon aktivitesi belirlendi. Bu amaçla belirlenen bitkilerin mevsime bağlı olarak semt

pazarlarından veya köylerden direkt toplama ile örneklemeleri yapıldı. Çalışmanın sonunda elde edilen analiz sonuçlarından bitkilerin CUPRAC antioksidan kapasiteleri ve % tirozinaz inhibisyon değerleri hesaplandı.

Bu çalışmada çeşitli hastalıkların tedavisinde ve kozmetik endüstrisinde kullanılan bitkilerin tirozinaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi. Enzim kaynağı olarak saf tirozinaz preparatları kullanıldı.

Çalışmamızda kullandığımız dietil eterli ve metanol-su bitki ekstrelerinin hemen hepsinde anti-tirozinaz aktivitesi saptandı. Çalışılan bitkiler arasında yüksek tirozinaz inhibitör etkisi gösteren pazı, mendek, yayla pancarı, karalahana ve çalı çileği bitkilerinin dietil eterli ve metanol-su ekstreleri yüksek tirozinaz inhibitör etkisi göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada iyi düzeyde bakır indirgeme gücü (CUPRAC) ve anti-tirozinaz aktivitesi gösteren bitkilerin etken bileşenlerinin izole edilerek yapı tayinlerinin yapılması; *in vivo* deneylerle kanıtlanması için daha ileri düzeyde çalışmalara gereksinim vardır. Böylece fitoterapotik ajan olarak farmakoloji, kozmetik gibi sektörlerde kullanımının uygun olabileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- [1] K hreviođlu, İ.  ., Keba, E. E. 2009. Biyokimya. Aktif Yayınevi, İstanbul.
- [2]  epel, S. 2011. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [3] Din , Y. 2009. Üreaz Enziminin Bazı Tıbbi Bitkiler Tarafından İnhibisyonu. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [4] Antonicelli, F., Bellon, G., Debelles, L. Horneback, W. 2007. Elastin-Elastases, Inflamm-Aging. Current Topics in Developmental Biology 79: 99-155.
- [5] Robert, L. 2001. Extracellular Matrix, Aging: A Review of Mechanisms, Interventions. Cosmetics, Toiletries 116: 61-70.
- [6] Daamen, W. F., Verkamp, J. H., Van Hest, J. C. M. Kuppevelt, T. H. 2007. Elastinas a Biomaterial for Tissue Engineering. Biomaterials 28: 4378-4398.
- [7] Nar, H., Werle, K., Bauer, M. M. T., Dollinger, H. Jung, B. 2001. Crystal Structure of Human Macrophage Elastase (MMP-12) in Complex with a Hydroxamic Acid Inhibitor. Journal of Molecular Biology 312: 743 - 751.
- [8] Partelli, S., Frulloni, L., Minniti, C., Bassi, C., Barugola, G., Onofrio, M., Stefano, C. Falconi, M. 2012. Faecal Elastase-1 is an Independent Predictor of Survival in Advanced Pancreatic Cancer 44: 945-951.
- [9] Vandivier, R. W., Fadok, V. A., Hoffmann, P. R., Bratton, D. L., Penvari, C. Brown, K. K. 2002. Elastase-Mediated Phosphatidylserine Receptor

Cleavage Impairs Apoptotic Cell Clearance in Cystic Fibrosis; Bronchiectasis Journal of Clinical Investigation 109: 661-70.

- [10] Güner, S. 2007. Biyokimya I. Kradeniz Teknik Üniversitesi Kitap Satış Bürosu, Trabzon.
- [11] Altınışik, M. 2009. Enzimler. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf>. Web adresinden 12 Haziran 2012 tarihinde edinilmiştir.
- [12] Can, A., Akev, N. 2008. Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biokimya Dersleri. İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul.
- [13] Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. Y. 2002. İnsan Biokimyası. Palme Yayıncılık.
- [14] Tüzün, C. 1997. Biyokimya Üçüncü Baskı. 124-125, Palme Yayınları, Ankara.
- [15] Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Ersoz, A., Dikmen, N., Montes, G. Özgünen, T. 1993. Harper'ın Biokimyası. 978-975-953- 311-3, Barış Kitapevi.
- [16] Tekman, Ş., Öner, N. 1981. Genel Biyokimya Üçüncü Baskı. 351- 367, Fatih Yayınevi, İstanbul.
- [17] Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A. M. 2006. Biokimya. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- [18] Bingöl, G. 1977. Vitaminler, Enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi, Ankara.
- [19] <http://www.renkliweb.com/kultursanat/enzimlerin-kullanim-alanlari-ve>

amaclari.html#ixzz1GmnYKDxG. Web adresinden 12 Haziran 2012 tarihinde edinilmiştir.

- [20] Göğüş, F. Fadiloğlu, S. 2006. Food Chemistry 975-591-871-x, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- [21] Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress; A Review. Journal of Dental & Allied Sciences 1(2): 63- 66.
- [22] Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B. 2010. Free radicals, antioxidants, diseases phytomedicines: Current status, future prospect. International Journal of Pharmaceutical Sciences, Research 3(1): 91-100.
- [23] Şener, G., Yeğen, B.Ç. 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim Dergisi, 22: 5-13.
- [24] Dündar, Y., Aslan, R. 1999. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması, Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi 2(2): 134-142.
- [25] Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease Health. International Journal of Biomedical Science 4(2): 89-96.
- [26] Aydemir, B., Karadağ-Sarı, E. 2009. Antioksidanlar, Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. Kocatepe Veterinary Journal 2(2): 56-60.
- [27] Sen, S., Chakraborty, R. 2011. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, Therapy, Chapter 1: 1-37.
- [28] Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., Telser, J. 2007. Free radicals antioxidants in normal physiological functions, human

- disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39: 44-84.
- [29] Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1): 47-95.
- [30] Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L. 2004. Antioxidants, prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44(4): 275-295.
- [31] Packer, L., Hiramatsu, M., Yoshikawa, T. 1999. Antioxidant food supplements in human health, Academic Press, USA.
- [32] Kiralan, M., Ercoşkun, H., Işıksal, S. 2004. Gıda antioksidanları, etki mekanizmaları, *Akademik Gıda*, 2:5-14.
- [33] Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C. 2006. Diabetes Mellitus, Oksidatif Stress, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31: 51-56.
- [34] Kanter, M., 1995. Free Radicals, Exercise Effects of Nutritional Antioxidant Supplementation, *Exercise and Sport Sciences Reviews* 23: 375-397.
- [35] Stahl, W., Sies, H. 2005. Bioactivity and Protective Effects of Natural Carotenoids, *Biochimica et Biophysica Acta* 1740: 101-107.
- [36] Yanardağ, R., Ozsoy-Sacan, O., Ozdil, S., Bolkent, S. 2007. Combined Effects of Vitamin C, Vitamin E, Sodium Selenate Supplementation on Absolute Ethanol-Induced Injury in Various Organs of Rats, *International Journal of Toxicology* 26: 513-523.
- [37] Rice-Evans, C. 1999. Screening of Phenolics and Flavonoids for Antioxidant Activity. In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, 239-253.

- [38] Seven, A., Candan, G. 1996. Antioksidan Savunma Sistemleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 27: 41-50.
- [39] <http://www.bitkiseldiyet.com/antioksidan-nedir-faydalari-nelerdir.html> Web adresinden 15.03.2019 tarihinde edinilmiştir.
- [40] Laurila, E., Kervinen R., Ahvenainen, R. 1998. The Inhibition of Enzymatic Browning in Minimally Processed Vegetables and Fruits, Postharvest News and Information 9 (4): 53-66.
- [41] Vamos-Vigyazo, L. 1981. Polyphenol Oxidase, Peroxidase in Fruits, Vegetables, CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition 14: 49-129.
- [42] Keleş, F. 1987. Gıdalarda Enzimatik Esmerleşme ve Kontrolü, Doğa Dergisi 11: 105-121.
- [43] Spille, G. A. 1997. Caffeine, Chapter 3. Tea: The Plant and Its Manufacture; Chemistry, Consumption of the Beverage, CRC Press, 1-38.
- [44] Beena, P., Gowda, L. R. 2000. Purification and Characterization of Apolyphenol Oxidase From the Seeds of Field Bean (*Dolichos lablab*). Journal of Agriculture Food Chemistry 48: 3839-3846.
- [45] Halim, D.H., Montgomery, M.W. 1987. Polyphenol Oxidase of d'Anjou Pears (*Pyrus communis* L.), Journal of Food Science 43: 603-608.
- [46] Yagar, H. 2004. Some Biochemical Properties of Polyphenol Oxidase from Celery. Preparative Biochemistry & Biotechnology 34: 387-397.
- [47] Aydemir, T., Akkanli, G. 2006. Partial Purification Characterization of Polyphenol Oxidase from Celery Root (*Apium graveolens* L.), The Investigation of the Effects on the Enzyme Activity of Some Inhibitors, International Journal of Food Science and Technology 41; 1090-1098.

- [48] Şakiroğlu, H., Küfrevioğlu, O., Kocaçalışkan, I., Oktay, M., Onganer, Y. 1996. Purification and Characterization of Dog-rose (*Rosa dumalisrechst.*) Polyphenol Oxidase. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 44: 2982-2986.
- [49] Park, E. Y., Luh, B. S. 1985. Polyphenol Oxidase of Kiwi Fruit. *Journal of Food Science* 50: 678-684.
- [50] Whitaker. J. R. 1972. *Principles of Enzymology for the Food Sciences*, Marcel Dekker. New York, Chapters 22-24.
- [51] Sarkar, J.M., Leonowicz, A., Bollog. J. M. 1989. Immobilization of Enzymes on Clays and Soils, *Soil Biology Biochemistry* 21 (2): 223-230.
- [52] Mos'ko, A. A., Shcherbakova, T. A., Glushko, N. A., Klenitskaya, I. A. 1992. Immobilization of Polyphenol Oxidase by Soil Humus, *Eurasion Science* 5: 60-65.
- [53] Ragazzi, E., Veronese, G. 1967. Ricerche Sulle Fenolossidasi Esul Contenato in o-difenolli Delle Olive, *Annali di Chimica* 57:1396-1397.
- [54] Tolbert, N.E. 1973. Activation of Polyphenol Oxidase hlof Coroplasts, *Plant Phatololgy Journal* 51(2): 234-244.
- [55] Brooks, D.W., Dawson, C.R. 1966. Aspects of Tyrosinase Chemistry, in the *Biochemistry of Copper*, Peicash, Academic Press, New York, 343.
- [56] Cabanes, J., Garcia-Canovas, F., Garcia-Carmona, F. 1994. Chemical, Anzymatic Oxidation of 4-methylcatechol in The Presence and Absence of L-serine. Spectrophotometric determination of intermediates. *Biochimica et Biophysica acta* 917: 190-197.
- [57] Brooks, S.J., Doyle, E.M., Hewage, C., Malthouse, J.P.G., Duetz, W.

- O'Conner, K.E. 2004. Biotransformation of Halophenols Using Crude Cell Extracts of *Pseudomonas putida* F6. Applied Microbiology and Biotechnology 64: 486-492.
- [58] Matheis, G., Belitz, H. D. 1977. Studies on Enzymatic Browning of Potatoes (*Solanum tuberosum*). Kinetics of Potato Phenoloxidase (E.C. 1.14.18.1) Monophenol, Dihydroxyphenylalanine: Oxygen-oxidoreductase, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung 163(3): 191-195.
- [59] Herrmann, K. 1973. Phenolische Pflanzeninhaltsstoffe Als Natürliche Antioxydantein, Astrochemistry 75: 499-504.
- [60] Şakiroğlu, H. 1994. Kuşburnu Meyvasından İzole Edilen Polifenol Oksidaz Enziminin Kinetik ve Elektroforetik Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum.
- [61] Gross, D., Coombs, J. 1975. Enzymatic Colour Formation in Beet, Cane Juices. Paper presented at the 15th General Assembly of C.I.T. S., Vienna 74: 153-161.
- [62] Martin, W., Ruberte, R. 1976. The Polyphenol of *Dioscorea alata* (yam) Tubers Associated with Oxidative Browning, Journal of Agriculturel and Food Chemistry 24: 67-70.
- [63] Wilcox, D.E., Porras, A. G., Hwang, Y.T., Lerch, K., Winkler, M.E., Solomon, E.I. 1985. Substrate Analogue Binding to the Coupled Binuclear Copper Active Site in Tyrosinase; Journal of Agriculturel and Food Chemistry 107: 4015-4027.
- [64] Harel, E., Mayer, A. M., Shain, Y. 1964. Catechol Oxidases From Apples, Their Properties, Subcellular Location and Inhibition, Physiologia Plantarum 17: 921-930.

- [65] Jen, J. J., Kahler K. R. 1974. Characterization of Polyphenoloxidase in Peaches Grown in the Southcast; Hort Science 9: 590-591.
- [66] Lavollay, J., Legrand. G. Lehongre G., Neumann, J. 1963. Enzyme-Substrate Specificity in Potato Polyphenol Oxidase, in Enzyme Chemistry of Phenolic Compounds, Pridham. J. E. Ed. Pergamon Press., Oxford, 33.
- [67] Vamos-Vigvazo, L., Gejzago, L. 1978. Substrate Specificity of the Enzymatic Browning of Apples, Acta Aliment Academia Scientarium Hungaricae 7: 227-235.
- [68] Laurila, E., Kervinen R., Ahvenainen, R. 1998. The Inhibition of Enzymatic Browning in Minimally Processed Vegetables and Fruits, Postharvest News, Information 9(4): 53-66.
- [69] Yang, C.P., Fujita, S., Kohno, K., Kusubayashi, A., Ashrafuzzaman, M. D., Hayashi, N. 2001. Partial Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase from Banana (*Musa sapientum* L.) Peel, Journal of Agriculture Food Chemistry 49: 1446-1449.
- [70] Mathewson, P.R. 2000. Enzymes, Eagen Press Handbook Series, 37-38.
- [71] Mcweeny, D.J. 1974. The Chemistry of Non-enzymatic Browning in Foods, its and Control by Sulphites; Journal of Science Food Agriculture 25 86), 735-746.
- [72] Espin, C.E., Garcia-Ruiz, P.A., Varon, R., Garcia-Canovas, F. 1998. Monophenolase, Diphenolase Reaction Mechanism of Apple and Pear Oxidases; Journal of Agriculture Food Chemistry 46: 2968-2975.
- [73] Labuza, T.P., Lillemo, J. H., Taoukis, P. S. 1992. Inhibition of Polyphenol Oxidase by Proteolytic Anzymes; Fruit Processing, 2: 9-13.
- [74] White, J.S., White, D.C. 1997. Source Book of Enzymes, Florida. The

Journal of Biological Chemistry 259: 11651-11653.

- [75] FDA. 1996. Chemical preservatives, Food and Drug Administration, the Office of Federal Register, Washington DC, USA.
- [76] Ferrar, P. H., Walker, J. R. L. 1996. Inhibition of Diphenol Oxidases: A Comparative Study, Journal of Food Biochemistry 20: 15-30.
- [77] Kubo, I., Yokokawa, Y. 1992. Two Tyrosinase Inhibiting Flavanol Glycosides From *Buddleia coriacea*; Phytochemistry 31: 1075-1077.
- [78] Chen, Q. X., Kubo, I. 2002. Kinetics of Mushroom Tyrosinase Inhibition by Quercetin; Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 4108- 4112.
- [79] Walker, J.R.L. 1969. Inhibition of the Apple Phenolase System Through Infection by *Penicillium expansum*; Phytochemistry 8(3): 561-566.
- [80] Duckworth, H.W., Coleman, J.E. 1970. Physicochemical and Kinetic Properties of Mushroom Tyrosinase, Journal of Biological Chemistry 245(7): 1613-25.
- [81] Jones, J. D., Hulme, A. C., Woollerton, L.S.C. 1965. Use of Poly(vinyl) Pyrolidone in the Isolation of Enzymes From Chloroplasts, Phytochemistry 4: 659-760.
- [82] Sanchez-Ferrer, A., Laveda, F., Garcia-Carmona, F. 1993. Substrate Dependent Activation of Latent Potato Leaf Polyphenol Oxidase by Anionic Surfactants, Journal of Agricultural and Food Chemistry 4: 1583-1586.
- [83] Sanchez-Ferrer, A., Bru, R., Garcia-Carmona, F. 1990. Partial Purification of a Thylakoid Bound Enzyme Using Temperature-induced Phase Partitioning; Analytical Biochemistry 184: 279-282.
- [84] Jimenez-Atienzar, M., Garcia-Carmona, F. 1996. Kinetics of The Slow pH

Mediated Transition of Polyphenol Oxidase, Archives of Biochemistry; and Biophysics 331: 15-22.

- [85] Friedman, M. 1997. Chemistry, Biochemistry and Dietary Role of Potato Polyphenols, Journal of Agricultural, Food Chemistry 45: 1523- 1540.
- [86] Dinçer, B. 1999. Döngel Bitkisi (*Mespilus germanica* L., *rosaceae*) Meyvelerindeki Polifenol Oksidaz Aktivitesinin Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [87] Mayer, A. M. 1987. Polyphenol Oxidases in Plants-Recent Progress. Phytochemistry 26: 11-20.
- [88] Paul, B., Gowda, L. R. 2000. Purification and Characterization of a Polyphenol Oxidase from the Seed of Field Bean (*Dolichos lab*), Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 3839-3846.
- [89] Gawlik-Dziki, U., Zlotek, U., Swieca, M. 2007. Characterization of Polyphenol Oxidase from Butter Lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.), Food Chemistry 107: 129-135.
- [90] Fan, Y., Flurkey, W.H. 2004. Purification, Characterization of Tyrosinase from Gill Tissue of Portebella Mushrooms; Phytochemistry 65: 671- 678.
- [91] Wisseman, K. W., Lee, C. Y. 1980. Purification of Grape Polyphenol Oxidase with Hydrophobic Chromatography; Journal of Chromatography 192: 232-235.
- [92] Das, J. R., Bhat, S. G., Gowda, L. R. 1997. Characterization of a Polyphenol Oxidase from the Kew Cultivar of Indian Pineapple Fruit, Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 2031-2035.
- [93] Chazarra, S., Garcia-Carmona, F., Cabanes, J. 2001. Evidence For a Tetrameric Form of Iceberg Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Polyphenol

Oxidase: Purification, Characterization, Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 4870-4875.

- [94] Erat, M., Sakiroglu, H., Kufrevioglu, O.I. 2006. Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase from *Ferula* sp.; Food Chemistry 95: 503-508.
- [95] Vamos-Vigyazo, L. 1981. Polyphenol Oxidase, Peroxidase in Fruits and Vegetables; CRC Critical Reviews Food Science, Nutrition 14: 49-123.
- [96] Chen, J.S., Cheng-i, W., Marshall, M.R. 1991. Inhibition Mechanism of Kojic Acid on Polyphenol Oxidase; Journal of Agricultural, Food Chemistry 39(11): 1897-1901.
- [97] Walker, J.R.L. 1977. Enzymic Browning in Foods: Its Chemistry, Control, Food Technology New Zealand, 12: 19-25.
- [98] Ruijsenaars, H.J., Hartmans, S. 2004. A Cloned *Bacillus halodurans* Multicopper Oxidase Exhibiting Alkaline Laccase Activity. Applied Microbiology and Biotechnology 65 177-182.
- [99] Claus, H., Decker, H. 2006. Bacterial Tyrosinases, Systematic and Applied Microbiology 29: 3-14.
- [100] Rodriguez Couto, S., Toca Herrera, J.L. 2006. Industrial and Biotechnological Applications of Laccases : A review. Biotechnology Advances 24: 500- 513.
- [101] Şimşek, Ş., Yemenicioğlu, A. 2007. Partial Purification and Kinetic Characterization of Mushroom Stem Polyphenoloxidase and Determination of its Storage Stability in Different Lyophilized Forms. Process Biochemistry 42: 943-950.
- [102] Polaina, J., MacCabe, A. P. 2007. Industrial Enzymes: Structure,

- [103] Özen, T., Karadeniz Bölgesinde Yetişen Bitkilerde Antioksidan ve üreaz İnhibisyon Aktivitelerinin Araştırılması On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- [104] Calay, Ö. 2010. Tirozinaz Enziminin Bazı Bitkiler Tarafından İnhibisyonu. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [105] Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Görk, G., Bekat, L. 1989. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi`; No: 116, 396 s. İzmir.
- [106] Davis, P. H. 1965-1985. Flora of Turkey, the East Aegean Islands. Volume 1-9, University Press., Edinburgh.
- [107] Baytop, A. 1998. İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayın No: 70, 375 s, İstanbul.
- [108] Davis, P. H., Mill, R. R., Tan, K. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement). Volume 10, University Press., Edinburgh.
- [109] Sağkal, Y. 2003. Giresun Yöresindeki Bazı Yenilebilir Bitkilerin Farklı Çözücülerdeki Ekstrelerinin Anti-Elastaz Aktivelerinin İncelenmesi Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Giresun.
- [110] Gündoğdu, A. 2005. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yetişen Karalahanalarda (*Brassica oleracea* var. *acephala*) Bazı Element Tayinleri. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 37-40 Trabzon.
- [111] Farnham, M. W., Grusak, M. A., Wang, M. 2000. Calcium, Magnesium Concentration of Inbred and Hybrid Broccoli Heads. Journal of American Society for Horticultural Science 125: 344-345.

- [112] Pennington, J. A., Bowse, Churches. 1994. Food Values, Portions Commonly Used, 16. ed., J. B. Lippincott Co., Philadelphia.
- [113] Baytop T. 1996. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi 2. Baskı 146, Nobel Tıp Kitabevleri.
- [114] Blackwell, W. H. 1990. Poisonous, Medicinal Plants. 329. Published by Prentice-Hall, USA.
- [115] Baytop, T. 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün. 480, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [116] Baytop, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- [117] Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaiski, Y., Takeda, Y., Tanaka, T. 1999. Traditional Medicine in Turkey IX: Folk Medicine in North-West Anatolia. Journal of Ethnopharmacology 64: 195-210.
- [118] Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E., Yıldırım, Ş. 2004. An Ethnobotanical Survey of the Beypazarı, Ayaş, Güdül District Towns of Ankara Province (Turkey). Economic Botany 58: 705-720.
- [119] Karagöz, A., Turgut, K. N., Çakır, Ö., Demirgan R., Arı, Ş. C. 2002. Bazı Yüksek Bitkilerden Hazırlanan Sulu Ekstrelerin Antiviral Aktivite Potansiyellerinin Değerlendirilmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir.
- [120] Akçin, Ö. E., Kandemir, N., Akçin, Y. 2004. A Morphological, Anatomical Study on a Medicinal and Edible Plant *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (*Boraginaceae*) in The Black Sea Region. Turkish Journal of Botany 28: 435-442.
- [121] <http://www.sifalibitkitedavisi.com/kuzu-kulagi.html>. Web adresinde 02

Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.

- [122] Davis, P. H. 1967. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburg University Pres, Edinburgh.
- [123] Zeybek, U., Zeybek N. 2002. Farmasötik Botanik. Ege Üniversitesi. Eczacılık Fakültesi. Yayınları, İzmir.
- [124] <http://www.forumpaylas.net/ziraat-tarim-hayvancilik/55096-cali-cilegi-vaccinium-myrtillus-tarimi.html>. Web adresinden 10 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
- [125] Eck, P., Gough, R. E. 1990. Small Fruit Crop Management, Pentice Hall, New Jersey.
- [126] Çelik, H. Bazı Yüksek Çalı Yaban Mersini Çeşitlerinin Rize'deki Performanslarının Saptanması Üzerine Araştırmalar, 1. Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Ekim 2003, Ordu-Turkey.
- [127] Çelik, H. 2004. Türkiye İçin Yeni Bir Meyve Likapa (Yaban Mersini). Hasad Aylık Gıda Tarım ve Hayvancılık Dergisi 20: 42-51.
- [128] Çelik, H. 2005. Yaban Mersini (Likapa) Yetiştiriciliği. Hasad Yayınları, Samsun.
- [129] Çelik, H. Eylül 2006. Karadeniz Meyvesi İçin Yeni Bir Meyve Türü Yaban Mersini (Likapa), 2.Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Tokat-Turkey.
- [130] Çelik, H. 2007. Rize İçin Mükemmel Bir Meyve Maviyemiş (Likapa). Çaykur Rizespor Dergisi 2: 92-97.
- [131] De Natale, A., Pollio, A. 2007. Plants Species in the Folk Medicine of *Montecorvino rovello* (Inland Campania, Italy). Journal of Ethnopharmacology 109: 295-303.

- [132] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Is%C4%B1rgan>. Web adresinden 02 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
- [133] Makaklı, B., Dinçer, M. 1985. Zararlı Otlar. Çağ Matbaası, Ankara.
- [134] Koca, İ., Hasbay, İ., Bostancı, Ş. 13-16 Ekim 2011. Samsun ve Çevresinde Sebze Olarak Kullanılan Bazı Yabani Bitkiler, Tüketim Şekilleri. Samsun Sempozyumu, Samsun-Türkiye.
- [135] Türel, İ., Ertekin, A., Oto, G., Çelikezen, F. Ç., Yaşar, S. 2009. *Urtica dioica* L. (Isırgan Otu) Metanol-Su Ekstraktının 7, 12-dimetilbenz(a)antrasen Uygulanan Tavşan Tüylerindeki İz Element Seviyeleri Üzerine Etkileri. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 15: 511-515.
- [136] http://www.egekoy.com/v1/resim28/goster.asp?klasor=resim/1ege_koyu&dosya=ezeltere.jpg&dosya_no=88. Web adresinden 11 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
- [137] Launert, E. 1981. Edible, Medicinal Plants, Covers Plants in Europe, a Drawing of Each Plant, Quite a Bit of Interesting information Hamlyn.
- [138] Pokluda, R., Kuben, J. 2002. Comparison of Selected Swiss Chard (*Beta vulgaris* ssp. *cicla* L.) Varieties. Horticultural Science 29: 114-118.
- [139] Alibas, I. 2006. Characteristics of Chard Leaves during Microwave, Convective and Combined Microwave-Convective Drying. Drying Technology, 24: 1-11.
- [140] Bolkent, Ş., Yanardağ, R., Tabakoğlu, O. A. Saçan, Ö. Ö. 2000. Effects of Chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) Extract on Pancreatic B Cells in
- [141] Streptozotocin-diabetic Rats; A Morphological and Biochemical Study.

Journal of Ethnopharmacology 73: 251-259.

- [142] Stefanovic, O., Comic L., Stanojevic, D. Solujic-Sukdolak, S. 2009. Antibacterial Activity of *Aegopodium podagraria* L. Extracts, Interaction Between Extracts and Antibiotics. Turkish Journal of Biology 33: 145-150.
- [143] <http://www.gulresmi.info/kurtpencesi-kurttirnagi-ve-faydalari>. Web adresinden 02 Ocak 2013 tarihinde edinilmiştir.
- [144] Coode, M. J. E., Cullen, J. Polygnum, L. 1967. The Flora of Turkey, East Aegean Islands, Edinburgh. Edinburgh University Press, 2: 269-81.
- [145] Martindale, W. 1993. Martindale the Extra Pharmacopoeia, 30th ed. The Pharmaceutical Press, London.
- [146] Duwejua, M., Zeitlin, I. J., Waterman, P. G. Gray, A. I. 1994. Anti-Inflammatory Activity of *Polygonum bistorta*, *Guaiacum officinale*, *Hamamelis virginiana* in Rats. Journal of Pharmacy; Pharmacology 46: 286-290.
- [147] <http://yukaritepekoyu.tr.gg/Y.oe.resel-Di%26%23287%3Ber-Bitki-T.ue.rlerini-G.oe.rmek-i%26%23305%3Bklay%26%23305%3Bn%26%23305%3Bz.htm>. Web adresinden edinilmiştir.
- [148] http://www.ulusalpu.com/Bitkiler/Bitkiler_1.htm. Web adresinden 10 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
- [149] Vanni A., Gastaldi D., Giunata G. 1990. Kinetic Investigations on the Double Enzymatic Activity of the Tyrosinase Mushroom. Annali di Chimica 80: 35-60.
- [150] Özyürek, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., Apak, R. 2009. Measurement of Xantine Oxidase Inhibitor Activity of Phenolics and Flavonoids with a

Modified Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) method. *Analytica Chimica Acta* 636: 42-50.

- [151] Kaya, İ., İncekara, N. Nemli, Y. 2004. Ege Bölgesi'nde Sebze Olarak Tüketilen Yabani Kuşkonmaz, Sirken, Yabani Hindiba, Rezene, Gelincik, Çoban Değneği ve Ebegümecinin Bazı Kimyasal Analizleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (Journal of Agricultural Sciences) 14: 1-6.
- [152] Toksoy, D., Bayramoğlu, M. Hacısalihoğlu, S. 2010. Usage, the Economic Potential of the Medicinal Plants in Eastern Black Sea Region of Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 31: 623-628.
- [153] Tuzlacı, E., Doğan, A. 2010. Turkish Folk Medicinal Plants, IX: Ovacık (Tunceli). *Marmara Pharmaceutical Journal* 14: 136-143.
- [154] Blois, M., S. 1958. Antioxidant Determinations by the use of a Stable Free Radical. *Nature*, 26: 1119-1200.
- [155] Alam, M.N., Bristi, N.J., Rafiquzzaman, M. 2013. Review on *in vivo*, *in vitro* Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Saudi Pharmaceutical Journal* 21: 143-52.
- [156] Gholamhohoseinlan, A, ZohreRazmi, Z. 2012. Screening the Methanolic Exracts of Some Plants for Tyrosinase Inhibitory Activity. *Toxicological & Environmental Chemistry* 94: 310-318.
- [157] Torun, M., Yardım, S. 1993. Serbest Radikallerin Kalp-Damar Hastalıkları ile İlişkisi, Savunma Mekanizmaları. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences* 18: 173-184.
- [158] NG, T.B., Liu, F., Wang Z.T. 2000. Antioxidant Activity of Natural Products from Plants; *Life Science* 66: 709-723.

- [159] Hurst, R., Bao, Y., Jemth, P., Mannervik, B., Williamson, G. 1997. 3-Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase Activity of Rat Class Theta Glutathione Transferase T2-2. Biochemical Society Transaction 25: 559.
- [160] Keha, E.E., Kührevioğlu, Ö.İ. 2007. Biyokimya, Aktif Yayınevi, İstanbul, 91-139.
- [161] Baydar, H. 2007. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, No: 51 Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta.



ÖZGEÇMİŞ

Hatice A. KILIÇ 05.06.1991 yılında Ankara’da doğdu. 1-6. Sınıfları Ankara/Sincan Semiha İsen İlköğretim Okulu’nda, 7 ve 8. sınıfı Ankara/Sincan’da Burak Reis İlköğretim Okulu’nda, liseyi Giresun’da Giresun Lisesi’nde tamamladı. 2010 yılında girdiği Erzurum Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü’nden 2016 yılında mezun oldu. Erzincan Eğitim Fakültesi’nde pedagojik formasyon eğitimini tamamlayarak Kimya Öğretmenliği unvanını aldı. Atatürk Üniversitesi’nde ikinci üniversite kapsamında İş Sağlığı ve Güvenliği bölümünden mezun oldu. Halen Giresun Üniversitesi, Kimya Bölümü yüksek lisans programında biyokimya ana bilim dalında eğitimine devam etmektedir.